

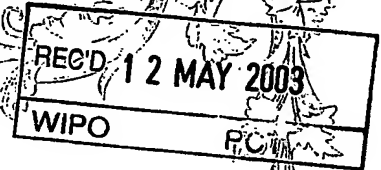
PCT/KR 03/00631

RO/KR 21.04.2003

Rec'd PCT/PTO 29 SEP 2004

MP P513

#3



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원번호 : 10-2002-0017470
Application Number

출원년월일 : 2002년 03월 29일
Date of Application MAR 29, 2002

출원인 : 크레아젠 주식회사
Applicant(s) Creagene Inc.

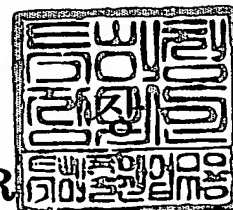
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



2003 년 04 월 21 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.03.29
【발명의 명칭】	신규한 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이
【발명의 영문명칭】	Novel Dendritic Cell-Specific Polynucleotides and Microarray Comprising the Same
【출원인】	
【명칭】	크레아젠 주식회사
【출원인코드】	1-1998-109166-9
【대리인】	
【명칭】	특허법인 세신(대표변리사 최홍순, 김경철)
【대리인코드】	9-2001-100004-2
【지정된변리사】	최홍순, 김경철, 양부현
【포괄위임등록번호】	2002-008612-3
【발명자】	
【성명의 국문표기】	안정훈
【성명의 영문표기】	AHN, Jung Hoon
【주민등록번호】	701109-1069015
【우편번호】	305-806
【주소】	대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 103동 403호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이윤
【성명의 영문표기】	LEE, Yoon
【주민등록번호】	671102-1168920
【우편번호】	305-330
【주소】	대전광역시 유성구 지족동 919 열매마을아파트 704동 101호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

전춘주

【성명의 영문표기】

JEON, Choon Ju

【주민등록번호】

620426-2051523

【우편번호】

305-806

【주소】

대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 138동 401호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

이상진

【성명의 영문표기】

LEE, Sang Jin

【주민등록번호】

740915-1019619

【우편번호】

411-313

【주소】

경기도 고양시 일산구 일산3동 후곡마을 청구아파트 1401동 1701호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

이병학

【성명의 영문표기】

LEE, Byung Hak

【주민등록번호】

700517-1058418

【우편번호】

306-810

【주소】

대전광역시 대덕구 석봉동 313-1 한밭아파트 101동 301호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

최강덕

【성명의 영문표기】

CHOI, Kang Duk

【주민등록번호】

620107-1069023

【우편번호】

302-861

【주소】

대전광역시 서구 탄방동 1192번지 3층

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

배용수

【성명의 영문표기】

BAE, Yong Soo

【주민등록번호】

570330-1024635

【우편번호】 305-761
【주소】 대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 308-704호
【국적】 KR
【심사청구】 청구
【핵산염기 및 아미노산 서열목록】
【서열개수】 6
【서열목록의 전자파일】 첨부
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 특허법인 세신(대표변리사 최홍순, 김경철) (인)
【수수료】
【기본출원료】 20 면 29,000 원
【가산출원료】 62 면 62,000 원
【우선권주장료】 0 건 0 원
【심사청구료】 28 항 1,005,000 원
【합계】 1,096,000 원
【감면사유】 소기업 (70%감면)
【감면후 수수료】 328,800 원
【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

수지상-세포 특이 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 수지상 세포, 특정 수지상 세포 아군 및 성숙화된 수지상 세포에서 고발현되는 신규한 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이에 관한 것으로서, 본 발명의 마이크로어레이를 이용하는 경우에는 수지상 세포, 특정 수지상 세포 아군 및 성숙화된 수지상 세포를 신속하고 정확하게 검출할 수 있다.

【대표도】

도 3

【색인어】

CD11c(-) 수지상 세포, 골수성 단핵구-유래 수지상 세포, CD1a(+) 수지상 세포, CD14(+) 수지상 세포, 마이크로어레이

【명세서】

【발명의 명칭】

신규한 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이
 {Novel Dendritic Cell-Specific Polynucleotides and Microarray Comprising the Same}

【도면의 간단한 설명】

도 1a는 각각 다른 아군의 수지상 세포를 생성 및 분리시키는 방법에 대한 구체적인 일 실시예를 나타내는 개략도. 도면에서, Lin⁻는 TCR⁻CD14⁻CD16⁻CD19⁻CD56⁻를 의미한다.

도 1b는 각각 다른 아군의 수지상 세포 (미성숙 및 성숙된 수지상 세포)의 표면 형질을 나타내는 FACS 그래프 및 사진. 우측 사진은 CD1a⁺ 수지상 세포, CD14⁺ 수지상 세포, CD11c⁻ 수지상 세포 및 단핵구-유래 수지상 세포의 18일, 18일, 5일 및 9일째 배양한 사진이다.

도 2는 수지상 세포-관련 유전자의 동정 및 특성 연구를 위한 실험 방법에 대한 개략도. 도면에서 DC는 서로 다른 3종의 수지상 세포의 아군의 동량의 혼합물을 나타내며, BMT는 B 세포, 단핵구 및 T 세포의 동량의 혼합물을 나타낸다.

도 3은 각각의 수지상 세포 아군에서 DC-관련 유전자의 발현 양상을 보여 주는 반정량화 RT-PCR 분석 사진. 도면에서 (+++)은 고발현, (++) PCR 25 사이클 이후에서만 검출될 정도의 저발현, (+)는 PCR 30 사이클 이후에서만 검출될 정도의 저발현, 그리고 (+/-)는 PCR 30 사이클 이후에서도 작은 시그널로 검출될 정도의 저발현을 각각 의미한다.

다. CD19, CD14 및 CD28은 각각 B 세포, 단핵구 및 T 세포에 대한 대조군 유전자로 이용된다. 분별 스크리닝에 의해 검출되지 않는 유전자는 별표 (*)로 표시되어 있고, ND는 "결정되지 않음"을 의미한다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<5> 본 발명은 수지상-세포 특이 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 수지상 세포, 특정 수지상 세포 아군 및 성숙화된 수지상 세포에서 고발현되는 신규한 폴리뉴클레오타이드 및 이를 포함하는 마이크로어레이에 관한 것이다.

<6> 수지상 세포 (dendritic cell: DC)는 항원-특이 T 세포를 프라이밍 (priming) 하거나 또는 관용화 (tolerating) 함으로써 T 세포 면역을 조절하며, 이는 생리적 조건, 예컨대 항원의 특성과 양 그리고 DC-성숙화 스트레스 신호의 존재 여부에 의해 엄격하게 조절된다 (1-4). 수지상 세포는 마우스 비장 및 인간의 말초 혈액 내의 총 단일핵 세포 (mononuclear cell)의 1% 미만을 구성 하지만, 모든 조직, 심지어 인간의 CNS에서도 존재하는 편재성의 세포이다 (5). 다른 면역 세

포와 상이하게, 수지상 세포는 상이한 신호에 따라, 골수성 (myeloid) 기원 또는 림포이드 (lymphoid) 기원의 많은 상이한 선조 세포로부터 발생한다 (6-8). DC 집단의 비균질성은 인간의 혈액 및 마우스 비장에 존재하는 다수의 수지상 세포 아군 (subset)에 의해 잘 설명된다. 각각의 종류의 수지상 세포의 발생학적인 측면은 아직까지도 명확하게 규명되어 있지 않지만, 인간 및 마우스에서의 다수의 명확한 수지상 세포 계통의 존재는, 명확하게 구별되는 다수의 수지상 세포 아군이 서로 다른 종류의 면역 반응을 리쿠르팅 (recruiting) 하는 독특한 기능을 갖고 있을 가능성을 보여준다 (9-12). 흥미롭게는, 성숙화 단계 및 항원-노출의 기간에 따라 수지상 세포 (심지어 특정의 한 종류의 수지상 세포)의 기능에 상당한 다양성이 발생하며, 이는 수지상 세포-매개 면역 촉발의 상이한 결과를 초래한다 (13-17).

<7> 면역 유도 및 관용에 있어서의 수지상 세포의 결정적인 역할 때문에, 마우스 모델에서의 악성 종양 및 자가면역 질환에 대한 수지상 세포의 역할에 대한 연구가 계속적으로 진행되고 있다 (18-19). 그러나, 자연적으로 발생하는 수지상 세포의 비균질성 때문에, 인간에 대한 면역 치료와 관련된 수지상 세포의 연구는 단핵구 (monocyte)-유래 수지상 세포에 집중되고 있다. 사실, 단핵구-유래 수지상 세포를 이용한 많은 임상 연구는 종양-특이성 면역에 대하여 이루어지고 있다 (20, 21). 그러나, 동물실험 결과를 사람에게 적용하는 가운데, 자가면역 및 이식 거부와 같은 유해한 면역 반응을 조절하는 데 유용한 인간의 다른 수지상 세포에 대한 연구가 필요하게 되었다.

<8> 지난 몇 년 동안, 실험 기술의 급진적인 발전에 의해 고순도 및 우수한 질의

인간의 다양한 수지상 세포를 얻을 수 있게 되었다 (22-25). 상이한 수지상 세포 아군의 독특한 능력을 보다 확실하게 규명하기 위하여, 수지상 세포-관련 유전자 및 그들의 발현 양상을 규명하려는 시도가 있다. 유전자 발현의 단계적 분석 (sequential analysis of gene expression: SAGE) 또는 cDNA 마이크로어레이 시스템을 이용하여, 단핵구-유래 수지상 세포에서 고발현 되는 유전자를 규명하려는 시도가 있다 (26, 27). 상기 연구들로부터 얻은 발현 양상은 서로 일치되는 것이 일반적이고, 단핵구-유래 수지상 세포에서 고발현 되는 유전자에 대한 공통적인 결과에 도달하는 데 충분하다. 그러나, 상기 연구 대상의 유전자들이 다른 종류의 수지상 세포에서도 고발현 되는지는 아직까지 밝혀지지 않았다.

<9> 본 발명자들은 분별 (differential) 플라크 리프팅 혼성화 반응 및 분별 디스플레이 RT-PCR을 이용하여 저밀도 혈액 수지상 세포에서부터 수지상 세포-특이 유전자를 규명하였다 (30, 31). 본 발명자들은 3종의 다른 수지상 세포 아군, 즉 말초혈액으로부터 얻은 CD11c⁻ 수지상 세포 (23) 그리고 조혈 모세포로부터 얻은 CD1a⁺ 및 CD14⁺ 수지상 세포 (24, 25, 32 및 33)로부터 "수지상 세포-관련 유전자"를 얻었다.

<10> 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문이 참조되고 그 인용은 괄호 내에 표시하였다. 인용된 논문의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 요지가 보다 명확하게 설명된다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <11> 본 발명자들은 수지상 세포, 특정 수지상 세포 아군 및/또는 성숙화된 수지상 세포에 대하여 특이성을 나타내는 뉴클레오타이드 서열을 규명하고자 예의 연구 노력한 결과, 신규한 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 다수의 수지상 세포-특이 서열을 발견하여 본 발명을 완성하게 되었다.
- <12> 따라서, 본 발명의 목적은 신규한 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공하는 데 있다.
- <13> 본 발명의 다른 목적은 상기 신규한 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩되는 폴리펩타이드를 제공하는 데 있다.
- <14> 본 발명의 또 다른 목적은 수지상 세포의 검출 방법을 제공하는 데 있다.
- <15> 본 발명의 다른 목적은 수지상 세포 아군 (림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포, 골수성 단핵구-유래 수지상 세포, 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포 및 골수성 CD14⁺ 수지상 세포)의 동정 방법을 제공하는 데 있다.
- <16> 본 발명의 다른 목적은 수지상 세포 아군의 성숙화 정도를 동정하는 방법을 제공하는 데 있다.
- <17> 본 발명의 다른 목적은 수지상 세포의 검출용 마이크로어레이를 제공하는 데 있다.
- <18> 본 발명의 또 다른 목적은 수지상 세포 아군의 동정용 마이크로어레이를 제공하는 데 있다.

<19> 본 발명의 다른 목적은 수지상 세포 아군의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로 어레이를 제공하는 데 있다.

【발명의 구성 및 작용】

<20> 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 1에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<21> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 2에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<22> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 3에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<23> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 4에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<24> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 5에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<25> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 6에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드를 제공한다.

<26> 상기한 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 수지상 세포에서 특이적으로 발현되는 것으로서, 대체적으로 고발현되는 양상을 나타내며, 몇몇 폴리뉴클레오타이드는 특정 아군(subset)의 수지상 세포에서만 특이적으로 고발현되는 양상을 나타내고, 몇몇 폴리뉴클

레오타이드는 성숙화된 수지상 세포에서만 특이적으로 고발현되는 양상을 나타낸다.

따라서, 상기 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 수지상 세포의 검출, 특정의 수지상 세포 아군의 동정 및/또는 성숙화된 수지상 세포의 동정에 유용하게 이용될 수 있다.

<27> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 1에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<28> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 2에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<29> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 3에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<30> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 4에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<31> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 5에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<32> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 서열번호 6에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드를 제공한다.

<33> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 수지상 세포의 검출 방법을 제공한다:

<34> 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 (myosin phosphatase, target subunit 1: MYPT1) 유전자, CD20-유사 전구체 (CD20-like precursor) 유전자, Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Ig superfamily protein: Z39IG) 유전자, 당단백질 nmb (glycoprotein nmb: GPNMB) 유전자, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 (5-lipoxygenase activating protein: FLAP) 유전자, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 (dihydropyrimidinase related protein-2) 유전자, 시스타틴 A (cystatin A: CSTA) 유전자, 면역글로불린 전사 인자 2 (Immunoglobulin transcription factor 2: IFT2) 유전자, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD (transforming growth factor, beta-induced, 68kD: TGFBI) 유전자, 마이엘로이드 DAP12-관련 렉틴 (myeloid DAP12-associating lectin: MDL-1) 유전자, B 세포 링커 단백질 (B cell linker protein: BLNK) 유전자, 활성화 RNA 중합효소 II 전사 보조인자 4 (Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4: PC4) 유전자, 에놀라아제 1 알파 (enolase 1, alpha: ENO1) 유전자, 90 kDa 열 충격 단백질 (90 kDa heat shock protein: hsp90) 유전자, 보조 단백질 BAP31/BAP29 (accessory proteins BAP31/BAP29) 유전자, 이소시트레이트 탈수소효소 3 (NAD⁺) 알파 (isocitrate dehydrogenase 3 (NAD⁺) alpha: IDH3A) 유전자, 마이크로솜 글루타티온 S-전이효소 2 (microsomal glutathione S-transferase 2: MGST2) 유전자, GABA(A) 수용체-관련 단백질 (GABA(A) receptor-associated protein: GABARAP) 유전자, 니카스트린(nicestrin) 유전자, 퓨린성 수용체 (패밀리 A 그룹 5) (purinergic receptor (family A group 5)) 유전자, Rho GDP 해리 억제자 베타 (Rho GDP dissociation inhibitor beta: ARHGDIB) 유전자, MAD 동종체 2 (MAD homolog 2: MADH2) 유전자, MLN51 유전자, 인터페론 조절 인자 4 (interferon regulatory factor 4: IRF4) 유전자, 상기 유전자들의 단편, 서열번호

1로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 4로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 6으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<35> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 CD11c⁻ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 동정 방법을 제공한다:

<36> 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<37> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 동정 방법을 제공한다:

- <38> 흉선과 활성화-조절 키모카인 (thymus and activation-regulated chemokine: TARC) 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 (lysosomal acid lipase) 유전자 또는 그의 단편, 칼모듈린 (calmodulin) 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.
- <39> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 동정 방법을 제공한다:
- <40> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 (S100 calcium-binding protein, beta: S100B) 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinase 12: MMP 12) 유전자 또는 그의 단편, 흉선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 (CD1B antigen: CD1B) 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 (MHC class II HLA-DQ-alpha chain: MHC DQ-alpha) 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 (osteopontin: Eta-1) 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모택틱 단백질 4 (monocyte chemotactic protein 4: MCP4) 유전자 또는 그의 단편, 리

소중 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 (annexin A2: ANXA2) 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8

(vesicle-associated membrane protein 8: VAMP8) 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DM-알파 사슬 (MHC class II HLA-DM-alpha chain: MHC DM-alpha) 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<41> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 동정 방법을 제공한다:

<42> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 (mannose receptor C type 1: MRC1) 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 (RNase1) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱

단백질 1 (MCP 1) 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<43> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편과 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법:

<44> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법을 제공한다:

<45> 흉선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

<46> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법을 제공한다:

<47> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로 프로테아제 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

<48> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계를 포함하는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법을 제공한다:

<49> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 1 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

<50> 본 발명의 방법에 있어서, 시험 대상이 되는 세포에서부터 DNA를 수득하는 방법은 세포로부터 분리한 mRNA로부터 역전사 반응을 통해 얻은 cDNA인 것이 바람직하다. 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, RT-PCR (reverse transcriptase-PCR)을 통해 cDNA를 얻는다.

<51> 이렇게 수득한 DNA (예: cDNA)는 바람직하게는 표지 (labelling) 된다. 이와 같은 표지는 분광측정, 광화학 측정, 생화학적 측정, 생전자적 (bioelectronic) 측정, 면역화학적 측정, 전기적 측정, 광학적 측정, 화학적 측정에 의해 검출될 수 있는 물질에 의해 이루어진다. 예를 들어, 상기 표지 물질은 P^{32} 및 S^{35} 와 같은 방사선동위원소, 화학발광 (chemiluminescent) 화합물, 표지된 결합 단백질, 중금속 원자, 형광 마커와 다

이와 같은 분광학적 마커, 그리고 자기 표지물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 다이는 예컨대, 퀴놀린 다이, 트리아릴메탄 다이, 프탈레인, 아조 다이 및 시아닌 다이를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 형광 마커의 비-제한적 예는 플루오리신 (fluorescein), 피코에리트린 (phycoerythrin), 로다민, 리사민 (lissamine), 그리고 Cy3와 Cy5 (Pharmacia)를 포함한다. 표지 물질에 의한 표지는 당업계에서 통상적으로 실시되는 다양한 방법, 예컨대, 닉 트랜스레이션 (nick translation) 방법, 무작위 프라이밍 방법 (Multiprime DNA labelling systems booklet, "Amersham"(1989)) 및 카이네이션 방법 (Maxam & Gilbert, *Methods in Enzymology*, 65:499(1986))을 통해 실시될 수 있다.

<52> 본 발명의 방법에 있어서, 세포에서부터 수득한 DNA와 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와의 혼성화 반응은 Southern, E. *J. Mol. Biol.* 98:503(1975)에 개시된 혼성화 과정을 기초로 하고, 여기에 다양한 조건 (염 농도, 온도, 반응 시간, 프로브의 농도)을 변화하여 최적화된 혼성화 조건에 따라 실시된다 (*Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd ed., 9.52-9.55(1989)).

<53> 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 혼성화는 분별 혼성화 (differential hybridization)으로 실시된다. 분별 혼성화는 두 개의 시료로부터 얻은 DNAs를 다른 표지 물질 (예: Cy3 및 Cy5)로 표지하고, 이들의 혼합물을 상기 뉴클레오타이드와 혼성화하여, 최종적으로 두 종의 시그널을 검출 및 분석하는 것이다.

<54> 본 발명의 방법에 있어서, 혼성화 여부를 확인하는 단계는 당업계에서 통상

적으로 이용되는 다양한 방법, 특히 표지에 이용된 상기 표지 물질의 종류에 따라 다양하게 실시될 수 있다. 예를 들어, 표지 물질로서 형광 물질을 이용한 경우, 형광 현미경, 바람직하게는 콘포컬 형광 현미경으로 확인할 수 있으며, 이와 같은 장치를 통해 검출된 시그널의 세기는 혼성화 정도에 비례하여 증가된다. 형광 현미경은 통상적으로 스캐너 장치가 있으며, 이 장치는 혼성화 세기의 정량적 2차원이미지를 형성시킨다. 스캐닝된 이미지를 통하여 수지상 세포, 수지상 세포 아군 및/또는 수지상 세포의 성숙화 정도를 결정할 수 있다.

<55> 본 발명의 방법에 이용되는 뉴클레오티드 (폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드)는 수지상 세포에서 특이적으로 고발현 (전사 단계 및/또는 트랜스레이션 단계)되는 것으로서, 본 발명자들에 의해 처음으로 확인되었다.

<56> 본 발명의 방법에 따르는 경우에는, 다양한 생물학적 시료 (조직, 혈액 등)로부터 유래되는 세포 시료에서 수지상 세포를 특정적으로 검출할 수 있다.

<57> 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 본 발명의 방법에 있어서, 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법은 다른 방법과는 상이하게 프로브 서열인 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편과의 혼성화 시그널이 감소된 경우에 성숙화된 CD11c⁻ 수지상 세포로 판정된다.

<58> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 수지상 세포 검출용 마이크로어레이를 제공한다:

<59> 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 (myosin phosphatase, target subunit 1: MYPT1) 유전자, CD20-유사 전구체 (CD20-like precursor) 유전자, Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Ig superfamily protein: Z39IG) 유전자, 당단백질 nmb (glycoprotein nmb: GPNMB) 유전자, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 (5-lipoxygenase activating protein: FLAP) 유전자, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 (dihydropyrimidinase related protein-2) 유전자, 시스타틴 A (cystatin A: CSTA) 유전자, 면역글로블린 전사 인자 2 (Immunoglobulin transcription factor 2: IFT2) 유전자, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD (transforming growth factor, beta-induced, 68kD: TGFBI) 유전자, 마이엘로이드 DAP12-관련 렉틴 (myeloid DAP12-associating lectin: MDL-1) 유전자, B 세포 링커 단백질 (B cell linker protein: BLNK) 유전자, 활성화 RNA 중합효소 II 전사 보조인자 4 (Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4: PC4) 유전자, 에놀라아제 1 알파 (enolase 1, alpha: ENO1) 유전자, 90 kDa 열 충격 단백질 (90 kDa heat shock protein: hsp90) 유전자, 보조 단백질 BAP31/BAP29 (accessory proteins BAP31/BAP29) 유전자, 이소시트레이트 탈수소효소 3 (NAD⁺) 알파 (isocitrate dehydrogenase 3 (NAD⁺) alpha: IDH3A) 유전자, 마이크로솜 글루타티온 S-전이효소 2 (microsomal glutathione S-transferase 2: MGST2) 유전자, GABA(A) 수용체-관련 단백질 (GABA(A) receptor-associated protein: GABARAP) 유전자, 니카스트린(nicestrin) 유전자, 퓨린성 수용체 (패밀리 A 그룹 5) (purinergic receptor (family A group 5)) 유전자, Rho GDP 해리 억제자 베타 (Rho GDP dissociation inhibitor beta: ARHGDIB) 유전자, MAD 동종체 2 (MAD homolog 2: MADH2) 유전자, MLN51 유전자, 인터페론 조절 인자 4 (interferon regulatory factor 4: IRF4) 유전자, 상기 유전자들의 단편, 서열번호

1로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 4로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 6으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<60> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포의 동정용 마이크로어레이를 제공한다:

<61> 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<62> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 동정용 마이크로어레이를 제공한다:

<63> 흉선과 활성화-조절 키모카인 (thymus and activation-regulated chemokine: TARC) 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 (lysosomal acid lipase) 유전자 또는 그의 단편, 칼모듈린 (calmodulin) 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편,

DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<64> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 동정 용 마이크로 어레이를 제공한다.

<65> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 (S100 calcium-binding protein, beta: S100B) 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinase 12: MMP 12) 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 (CD1B antigen: CD1B) 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 (MHC class II HLA-DQ-alpha chain: MHC DQ-alpha) 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 (osteopontin: Eta-1) 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모택틱 단백질 4 (monocyte chemotactic protein 4: MCP4) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 (annexin A2: ANXA2) 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 (vesicle-associated membrane protein 8: VAMP8) 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DM-알파 사슬 (MHC class II HLA-DM-alpha chain: MHC DM-alpha) 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그

리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<66> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 동정 용 마이크로어레이를 제공한다:

<67> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 (mannose receptor C type 1: MRC1) 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 (RNAs1) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 1 (MCP 1) 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

<68> 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편이 고체 표면에 고정화된 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이를 제공한다.

- <69> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이를 제공한다:
- <70> 흥선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.
- <71> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이를 제공한다:
- <72> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로 프로테아제 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모택틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 랑게

린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

<73> 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이를 제공한다:

<74> 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오펀틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 1 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

<75> 본 발명의 마이크로어레이에 있어서, 상기한 유전자 또는 그의 단편은 혼성화 어레이 요소 (hybridizable array element)로서 이용되며, 기체 (substrate) 상에 고정화된다. 바람직한 기체는 적합한 견고성 또는 반-견고성 지지체로서, 예컨대, 막, 필터, 칩, 슬라이드, 웨이퍼, 파이버, 자기성 비드 또는 비자기성 비드, 젤, 튜빙, 플레이트, 고분자, 미소입자 및 모세관을 포함한다. 상기한 혼성화 어레이 요소는 상기의 기체

상에 배열되고 고정화 된다. 이와 같은 고정화는 화학적 결합 방법 또는 UV와 같은 공유 결합적 방법에 의해 실시된다. 본 발명의 구체적인 일 실시예에 따르면, 상기 혼성화 어레이 요소는 에폭시 화합물 또는 알데히드를 포함하도록 변형된 글래스 표면에 결합될 수 있고, 또한 폴리라이신 코팅 표면에서 UV에 의해 결합될 수 있다. 또한, 상기 혼성화 어레이 요소는 링커 (예: 에틸렌 글리콜 올리고머 및 디아민)를 통해 기체에 결합될 수 있다.

<76> 본 발명의 마이크로어레이에 적용되는 시료 DNA는 상술한 표지 방법에 따라 표지되고, 마이크로어레이상의 어레이 요소와 혼성화된다. 혼성화 조건은 상술한 바와 같이, 다양하게 할 수 있으며, 그 구체적인 조건은 하기의 실시예에 예시되어 있다. 혼성화 정도의 검출 및 분석은 표지 물질에 따라 상술한 바와 같이 다양하게 실시될 수 있으며, 그 구체적인 일례는 하기의 실시예에 기재되어 있다.

<77> 한편, 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 마이크로어레이는 스파이크 유전자를 포함한다. 스파이크 유전자는 DNA 또는 RNA 형광 표지(fluorescence labeling)하여 마이크로어레이 상에서 혼성화할 때, 실험 과정에서 발생하는 시그널(signal)의 차이를 보정하는데 사용한다.

<78> 본 발명의 마이크로어레이를 이용하는 경우, 수지상 세포, 특정 수지상 세포의 아군 및 수지상 세포의 성숙화 정도를 검출할 수 있다.

<79> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본

발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

<80>

실시예

<81> 실험 방법

<82> 세포 및 RNA 준비

<83> 각각의 DC 아군은 생성 또는 분리의 과정은 도 1a에 요약되어 있다. CD1a⁺ DCs 또는 CD14⁺ DCs는 제대 혈액 (충남 대학교 의과대학 및 모태 산부인과 (대전, 대한민국)로부터 구입함)으로부터 분리한 CD34⁺ 선조 세포로부터 생성된 것이다. 제대 혈액으로부터의 단일핵 세포 (PMBC)는 피콜 밀도 구배 방법 (d 1.077 g/ml)을 이용하여 수득하였다. CD34⁺ 조혈 모세포는 MACS 분리 키트 (Miltenyi Biotech)를 이용하여 PMBC로부터 분리하였다. 이렇게 얻은 CD34⁺ 세포는 증식을 위해 12-웰 배양 플레이트 (NUNC)에 2×10^5 세포/ml로 씨딩 하였다. 배양물은 TNF- α (100 U/ml, Endogen)와 IL-3 (100 U/ml, Endogen)의 존재 (CD14⁺ DCs의 경우) 또는 TNF- α (100 U/ml, Endogen)와 GM-CSF (500 U/ml, LG 화학, 대전)의 존재 (CD1a⁺ DCs의 경우) 하에서 10% 열-불활성 우태아 혈청 (FBS)을 함유하는 RPMI1640 배지 (GIBCO)에서 배양 하였다. 상기 배양물을 2일에 1회씩 새로운 인자를 함유하는 배지로 2×10^5 세포/ml 세포 밀도로 분할함으로써 최적의 배양 조건을 유지 하였다. 8일째 (미성숙 DCs) 및 18일째 (성숙 DCs)의 배양물을 수집 하고, 항-CD1a-PE 및 항-CD14-FITC (Becton Dickinson)로 염색한 다음, FACSCalibur 또

는 FACSsort (Becton Dickinson)를 이용하여 포지티브 신호를 나타내는 세포를 분류 하였다.

<84> CD11c⁻ DCs는 BDCA-4 세포 분리 키트 (Miltenyi Biotech) 또는 혈액 수지상 세포 분리 키트 (Miltenyi Biotech)를 약간 변형하여 다음과 같이 말초 혈액으로부터 분리하였다: T 세포, NK 세포 및 단핵구를 합텐화 항-CD3, CD11b 및 CD16 항체 그리고 항-합텐 마이크로비드를 이용하여 PBMC로부터 제거하였다. 이어, 항-CD11c 항체 (Pharmingen) 및 염소 항-마우스 마이크로비드 (Miltenyi Biotech)를 이용하여 CD11c⁺ 세포를 배제시켰다. 그리고 나서, CD4⁺/CD11c⁻ 혈액 DCs를 MACS CD4 마이크로비드 및 Minimacs 분리 컬럼 (Miltenyi Biotech)을 이용하여 비자기 분획으로부터 선별하였다. 10% 자가 인간 혈청 (소망하지 않는 혈청 항원-매개 자극을 회피하기 위함), IL-3 200 U/ml (Endogen) 및 인간 재조합 CD40L 5 µg/ml (본 발명자에 의해 제조)이 보충된 RPMI 1640 배지에서 분리한 CD11c⁻ DCs를 5일 동안 배양하여 성숙된 DCs를 얻었다.

<85> T 림프구는 T 세포 분리 키트 (Pierce)를 이용하여 면역 친화성 고갈에 의해 PMBC로부터 정제하였다. B 림프구는 공급자 (StemCell Technologies)의 프로토콜에 따라 ResettSep을 이용하여 전혈로부터 얻었다. 단핵구는 인간 감마 글로불린-코팅 페트리 디쉬에 흡착시켜 PMBC로부터 정제하였다.

<86> 단핵구-유래 DCs (MoDCs)는 흡착성 단일핵 세포로부터 얻었다. PBMCs를 6-웰 배양 플레이트에 5 x 10⁶ 세포/ml의 밀도로 씨당한 다음, 37℃에서 1시간 동안 접착하도록 하고, 비흡착성 세포를 전-가열된 RPMI1640으로 세척하였다. 흡착성 세포를 10% 자가 인간 혈청, IL-4 1000 U/ml (Endogen) 및 GM-CSF 1000 U/ml (LG 화학, 대전)이 보충된 RPMI 1640 배지에서 7일 동안 배양하였다. 배지를 3일째

및 5일째에서 새로운 것으로 교체 하였다. 7일째에, 비흡착성 세포를 적당한 교반을 통해 미성숙 MoDCs로 수집하였다. 7일째의 비흡착성 세포를 $\text{TNF-}\alpha$ (Pharmingen) 10 ng/ml가 보충된 50 %(v/v) 활성 단핵구 배양액 배지 (MCM: monocyte conditioned medium; Armin Bender et al., *Journal of Immunological Methods* 196:121-135(1996))에서 2일 동안 추가적으로 배양하여 성숙화된 MoDCs를 수득하였다. 사멸된 세포 및 오염 림프구는 Nycodenz 밀도 구배 원심분리 (34)를 통하여 제거하였다. 9일째에 CD1a^- MoDCs를 얻기 위하여, 자가 인간 혈청을 배양물로서 이용하였다 (22).

<87> 총 RNA는 Trizol 시약 (Life Technologies, Inc.)을 이용하여 각각의 DC 아군으로부터 추출하였고, mRNA는 polyATtrack 시스템 (Promega)을 이용하여 친화성 크로마토그래피로 정제하였다.

<88> 서브트랙티브 (subtractive) DC-cDNA 라이브러리의 구축

<89> Superscript II 역전사 효소 (Life Technologies, Inc) 200 유닛 그리고 DC 아군과 백혈구로부터 추출한 총 RNA 200 ng을 이용하여 공지된 방법 (35, 36)에 따라 cDNAs를 합성하였다. 첫 번째 가닥 cDNA는 200 ng 총 RNA, 10 pmol CDS 프라이머 (AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACT3ON₋₁N, N=A, C, G, T; N₋₁=A, C, G) 그리고 10 pmol SMART 프라이머 (AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGTACGCGG)를 혼합하고 이를 70℃에서 2분간 가열하고 식힌 후, 여기에 Superscript II 역전사 효소를 가하고 42℃에서 1

시간 반응시켜 제작하였다. TE 완충액 (10 mM Tris, pH 7.6, 1 mM EDTA)으로 5배 희석한 후 희석액 6 μ l, PCR 프라이머 (AAGCAGTGGTAACAACGCAGAGT)를 혼합한 후 PCR 반응 (총 부피 100 μ l; 95°C 1 분, 20-25 사이클 [95°C 5초, 65°C 5초, 68°C 6분])을 하여 두 번째 가닥 cDNA를 합성하였다.

<90> 서브트랙션 (subtraction)은 PCR-Select cDNA Subtraction 키트 (Clontech)를 이용하여 제조자의 프로토콜에 따라 실시하였다. 이러한 서브트랙션에서, 수지상 세포 (CD1a⁺, CD14⁺, 및 CD11c⁻ DCs)는 테스트로서 이용하였고, B 세포, 단핵구 및 T 세포 (이하, "BMT"라 한다)는 드라이버로서 이용하였다.

<91> DC 공급의 한계를 극복하기 위하여, SMART PCR cDNA 합성 키트 (Clontech)를 이용하여 DC cDNA를 전-증폭하였다. 이와 유사하게, BMT-cDNA를 전-증폭하였다. 증폭된 cDNAs를 혼합하여 테스트 (DC-cDNAs) 앰플리콘 (amplicon) 또는 드라이버 (BMT-cDNAs) 앰플리콘을 얻었고, *Rsa*I으로 절단한 다음, 어댑터를 연결하였다. 사용된 어댑터의 염기 서열은 다음과 같다: 어댑터 1

(5'-CTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAGCGCCGCCCGGGCAGGT-3', 3'-GGCCCGTCCA-5'), 어댑터 2R

(5'-CTAATACGACTCACTATAGGGCAGCGTGGTCGCGGCCGAGGT-3', 3'-GCCGGCTCCA-5')

<92> 드라이버의 물 농도를 테스트와 비교하여 30배로 하여 서브트랙티브 혼성화 반응을 2회 실시하여 BMT와 공유하는 cDNA를 제거하였고, 이에 의해 DC-특이 cDNA의 풍부화가 이루어진다. 첫 번째 서브트랙티브 혼성화 반응은 혼성화 1 시료와 혼성화 2 시료로 나누어 실행하였다. 혼성화 1 시료는 어댑터 1이 연결된 테스트

DNA (10 ng)와 300 ng의 드라이버 DNA를 혼합하고, 여기에 4 X 혼성화 완충액을 넣어 제조하였다. 혼성화 2 시료는 어댑터 2R이 연결된 테스트 DNA (10 ng)와 300 ng의 드라이버 DNA를 혼합하고 여기에 4 X 혼성화 완충액을 넣어 제조하였다. 두 개의 혼성화 시료는 98℃에서 90초간 변성시킨 후 68℃에서 8시간 동안 혼성화했다. 2개의 혼성화 시료와 추가로 200 ng의 드라이버 DNA를 혼합하고 다시 68℃에서 하룻밤 동안 혼성화 반응을 진행하였다. 이와 같은 혼성화 과정을 통하여 드라이버에는 없는 유전자가 남아 이를 PCR을 통하여 증폭할 수 있다. 역방향-서브트랙션은 드라이버와 테스트를 서로 바꾸어 위와 똑같은 과정을 거쳐 수행하였다.

<93> 서브트랙션 후의 잔존 cDNA를 PCR로 27 사이클 증폭하였고, 이어 12 사이클 동안 네스트 PCR을 실시하였다. 서브트랙션된 cDNA를 pGEM-T Easy 벡터 (Promega)에 삽입하고, *E. coli* DH5 α 에 형질전환시켜 DC-특이 서브트랙션된 cDNA 라이브러리를 구축하였다.

<94> 콜로니 PCR 및 마이크로어레이 제작 (*fabrication*)

<95> 상기 서브트랙션된 DC-cDNA 라이브러리로부터 콜로니를 무작위적으로 선택하고, 콜로니 PCR을 위하여 LB에서 3시간 동안 배양하였다. 또한, 마이크로어레이 제작을 위하여, CD (cluster of differentiation) 및 사이토카인 유전자를 포함하는 124 종의 유전자를 Incyte 사로부터 구입하였으며 (Incyte 사의 모든 클론은 서열 결정이 된 것임), 추가적인 57 CD 유전자는 본 발명자에 의해 PCR-증폭 및 T 벡

터에 클로닝된 것이다. 3 종의 식물 유전자, *agpL* (AF184598), *agpS* (AF184597) 및 (AF320905)는 스파이크 유전자로 포함시켰다. 총 2,304 클론을 PCR을 위하여 96-웰 플레이트에서 배양하였다. PCR은 아미드화 벡터-특이 프라이머 (lab1 5'-GTGCTGCAAGGCGATTAAG-3', lab2 5'-GGAATTGTGAGCGGATAAC-3')를 이용하여 100 μ l 부피로 30 사이클을 실시하였다. 온도 사이클의 조건은 94°C에서 30초 동안 변성, 62°C에서 30초 동안 어닐링 및 72°C에서 1분 30초 동안 연장 반응이었다. 증폭된 DNAs를 3 x SSC에 용해하고 Q-bot (Genetix, UK)을 이용하여 글래스 슬라이드(CEL Associate, Inc) 상에 프린팅하여, DC-관련 유전자를 스크리닝할 수 있는 서브트랙션된 DC cDNA 라이브러리로 구성된 DC 마이크로어레이를 제작하였다. DC 아군-특이성 그리고 성숙화 및 공여자 차이의 효과를 규명하기 위하여, DC-관련 유전자를 한쌍의 다른 마이크로어레이에 마운팅하고, 이를 "HI380"으로 명명하였다.

<96> 마이크로어레이 분석

<97> 전방향- 및 역방향-서브트랙션된 앰플리콘 (cDNA)을 DC/BMT 분별 스크리닝에 이용하였다. 각각의 DC 아군의 증폭된 cDNA를 서브트랙션 없이 HI380 마이크로어레이 분석을 위한 프로브로서 이용하였다. 상기 cDNA 1 μ g 및 식물 스파이크 DNAs 20-100 pg의 혼합물을 크레나우 단편 (NEB) 및 무작위 옥타머를 이용하여 무작위 프라이밍 방법에 따라 Cy3 (Pharmacia) 또는 Cy5 (Pharmacia)으로 형광 표지하였다. 표지된 앰플리콘을 2배 부피의 에탄올로 실온에서 에탄올 침전을 시켜 정제하고, 4 x SSC 40 μ l, 0.2% SDS, 폴리(dA) 0.1 g/l, 이스트 tRNA 0.1 g/l 및 Cot1 DNA 0.25 g/l의 혼합물 40 μ l에 재현탁하였다. 표지된 DNA를 100°C에서 5분 동안 변성시키고 마이크로어레이에 적용하여

55℃에서 12-16시간 동안 혼성화 반응을 시킨 다음, 수회 세척을 실시하였다. 혼성화된 마이크로어레이의 형광 상은 Scanarray 4000 마이크로어레이 스캐너 (GSI Lumonics)로 얻었고, 상의 분석은 GenePix Pro 3.0 (Axon Instruments)로 실시하였다. 스캐닝을 위한 PMT 및 레이저 값은 스파이크 유전자의 Cy3 및 Cy5의 세기를 등화시킴으로써 조절하였다. 형광 비율은 스파이크 유전자 (각각의 마이크로어레이에서 6 스팟 이상)의 평균 세기로부터 계산된 정규화 인자로부터 조정하였다.

<98> 역혼성화

<99> 마이크로어레이에서의 중복된 클론을 스크리닝 아웃하기 위하여 역혼성화 (Back-hybridization)를 실시하였다. 서열 분석을 통해 규명된 중복된 클론은 T-벡터 삽입 위치의 양쪽 끝 부분에 해당하는 프라이머 (센스 5'-TGCTCCCGGCCGCCAT-3', 안티센스 5'-CGGCCGCGAATTCCTAG-3')를 이용하여 PCR-증폭 하였다. 중복된 클론 (Ig 수퍼패밀리 단백질, MHC 클래스 II DR 풀, 미토콘드리아 유전자 풀, 오스테오폰틴, 어넥신 A2, MMP-12, 및 α -튜블린)을 수집하고, Cy3 또는 Cy5로 표지한 다음, 마이크로어레이에서 혼성화시켰다. 벡터 서열 사이의 백그라운드 혼성화를 최소화하기 위하여, 블록킹 DNA로서 단일쇄 DNA를 혼성화 반응에 포함시켰다. 단일쇄 DNA는 주형으로서 자가-연결 pGEM T-Easy PCR 생성물 (lab1 및 lab2로 프라이밍된 것) 그리고 lab1 프라이머를 이용하여 비대칭 PCR로 준비하였다. 10,000 이상의 세기를 나타내는 중복된 클론을 스크리닝 아웃 하였다.

<100> 서열 분석

<101> 마이크로어레이에서 선별된 클론을 세포 스톱으로부터 회수하고 pGEM T-Easy 내의 각각의 삽입 서열 (lab1 및 lab2 프라이머의 안쪽에 위치)을 M13 전방향 및 역방향 프라이머 (Perkin-Elmer)를 이용하여 증폭하였다. PCR 생성물을 Big Dye 터미네이터 키트 (Perkin-Elmer)를 이용하여 서열 분석을 하였고, 377 ABI 자동화 96-레인 서열분석기 (Perkin-Elmer)로 분석하였다. 벡터 서열 분석을 위하여 Seqman 4.03 (DNASTAR Inc.)를 이용하여 약 200-700 bp 서열을 트리밍 하였고, 고급 블라스트 검색 (advanced Blast search: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)으로 서열 분석을 하였다. 염색체 상에서의 위치도 블라스트 검색 (<http://genome.ucsc.edu>)으로 조사하였다.

<102> 정량화 PCR

<103> 각각의 시료에서의 초기 cDNA 함량을 GAPDH의 양으로 정규화 하였다. 각각의 cDNA 4 ng을 포함하는 반응액 50 μ l을 Perkin-Elmer DNA 온도사이클기 9600 프리즘에 적용하여 정량화 PCR 반응을 30 사이클 (94°C에서 15초, 55°C에서 20초 및 72°C에서 1분)을 실시하였다. 각각의 메시지의 특이성을 반-정량적으로 평가하기 위하여, PCR 생성물 10 μ l를 25 사이클 및 30 사이클에서 각각 회수하고, 1.1% 아가로스 겔에서 러닝하였다. 각각의 선택된 클론에 대한 PCR 프라이머는 PrimerSelect 4.03 (DNASTAR Inc.)을 이용하여 디자인 하였다. PCR 생성물의 크기는 300-600 bp이었고, 최적의 어닐링 온도는 55-65°C이었다.

<104> 실험 결과

<105> 정제된 수지상 세포 (DC)의 면역형질

<106> 서브트랙션된 DC-cDNA 라이브러리의 구축을 위하여 분리된 $CD1a^+$, $CD14^+$ 또는 $CD11c^-$ DCs의 정제도는 90~94%이었고, 세포 소팅 또는 분리 후의 추가적인 실험에서의 각각의 DC 아군의 정제도는 98% 이상이었다 (참조: 도 1A). 18일째의 $CD1a^+$ DCs 및 $CD14^+$ DCs는 표면 형질과 형태적인 측면에서 확연하게 차이가 있었다 (참조: 도 1B). 그러나, 상기 두 DCs는 HLA-DR, CD83 및 CD86의 발현에 있어서는 매우 유사한 양상을 나타내었다. 18일째에서의 DC-Lamp의 발현은 $CD1a^+$ DCs에서만 관찰이 되었고, $CD14^+$ DCs에서는 관찰되지 않았다. $CD14^+$ DCs에서, 8일 내지 18일 사이의 배양 동안에 CD83의 고발현이 관찰되었고, HLA-DR과 CD86의 발현은 감소되는 양상을 나타내었다. $CD1a^+$ DCs에서 랑게린 (Langerin) 염색이 8일 내지 18일 사이의 배양 동안 관찰될 것으로 기대하였으나 (37), 8일째의 $CD1a^+$ DCs는 랑게린 mAb (monoclonal antibody)에 의해 염색이 되지 않았으며, 이는 $CD1a^+$ DCs의 서로 다른 배양물에서의 속도론적 (kinetic) 변이를 나타내는 것이다. $CD1a^+$ DCs에서의 18일째의 랑게린 발현은 면역 염색에서 명확하지 않았으나, 마이크로어레이 분석에서는 상향 조절된 랑게린 발현이 관찰되었다 (참조: 표 2). 따라서, 18일째의 $CD1a^+$ DCs는 성숙화 과정 동안 상당한 정도의 랑게린⁺ 형질의 윈도우 내에 있음을 알 수 있다. 이와 같은 사이토카인-유도 DCs와는 상이하게, 말초 혈액으로부터 분리한 $CD11c^-$ DCs는 CD86을 거의 발현하지 않았고, 크기가 비교적 작고 균질하였다 (참조: 도 1B). 한편, 5일째의 $CD11c^-$ DCs는 CD80과 DC-Lamp 뿐만 아니라 상당한 정도의 CD86을 발현하였다. MoDCs의 7일째 및 9일째의 대표적인 형질은 각각

CD1a⁺/CD83⁻/DC-Lamp⁻ 및 CD1a⁻/CD83⁺/DC-Lamp⁺ 이었다. 발현 양상은 공여자에 따라 어느 정도의 차이는 있었으나, DC의 동일한 아군에서 수용 가능한 범위 내이었다.

<107> 서브트랙티브 DC-cDNA 라이브러리의 DC 아군에 대한 고특이성

<108> 대부분의 백혈구에 의해 공유되는 풍부한 메시지에 의해 방해되는 것 없이 DC 특이성 유전자에 대한 직접적인 접근을 하기 위하여, 본 발명자들은 DC cDNA 서브트랙션 전략을 이용하였고, 이어 마이크로어레이 분석을 실시하였다 (참조: 도 2). B 세포, 단핵구 및 T 세포 메시지를 서브트랙션함으로써 DC 서브트랙티브 라

이브러리를 $CD1a^+$, $CD14^+$ 및 $CD11c^-$ DCs의 조합물로부터 구축하였다. 이러한 서브트랙션에서, 본 발명자들은 PCR-select (38)라 명명된 변형된 서브트랙티브 혼성화, 즉 서브트랙션된 유전자를 선택적으로 풍부화시키는 억제성 PCR를 이용하였다. 서브트랙션의 특이성을 비교하기 위하여, 전방향 서브트랙션 (BMT에 의한 DC의 서브트랙션) 및 역방향 서브트랙션 (DC에 의한 BMT의 서브트랙션)을 같이 실시하였다. 상기 두 서브트랙션으로부터 얻은 PCR 생성물은 아가로스 겔에서 명확한 밴드의 독특한 양상을 나타내었고, 상기 밴드는 서브트랙션 되지 않은 대조군에서는 발견되지 않았다. DC 서브트랙티브 라이브러리의 완전성을 검사하기 위하여, 8개의 클론을 무작위적으로 선택하고 서열 분석을 하였다. 서열 분석을 통해 MMP12 유전자로부터의 서열과 일치되는 2 종의 cDNA, 미토콘드리아 유전자 중 3 종의 cDNAs 및 2 종의 신규한 ESTs가 규명되었다. 무작위적으로 선택된 상기 클론에서 공지된 하우스키핑 유전자에 해당하는 cDNAs가 없는 것은 서브트랙션의 고 효율성을 보여주는 것이다. 서브트랙션의 완전성을 추가적으로 평가하기 위하여, 전방향 및 역방향 서브트랙션된 cDNAs를 각각 Cy3 및 Cy5로 표지하고, 2000개의 공지된 유전자 (한국 생명공학 연구소의 Park JH 박사로부터 구입)가 있는 마이크로어레이에 이중 블라인드 시험으로 혼성화 반응을 시켰다. 스팟의 대부분은 Cy3 또는 Cy5의 단독 형광을 나타내었고, Cy3 및 Cy5 둘 모두의 형광을 나타내는 스팟은 거의 없었다. 이러한 결과는 실시된 서브트랙션이 2종의 cDNA 군에서 공통적인 메시지를 제거하였고, 서브트랙션된 cDNA가 마이크로어레이 분석에서 각각의 군에 대한 특정 프로브로 이용될 수 있음을 보여 주는 것이다.

<110> DC-관련 유전자를 규명하기 위하여, DC 서브트랙션된 라이브러리로부터 얻은 1,920종의 클론 및 181종의 CD 및 사이토카인 유전자 cDNAs를 유리 슬라이드에 고정화하고 다음과 같이 cDNA 프로브를 이용하여 분별 혼성화를 실시하였다: 전방향-서브트랙션된 (DC-특이성) 및 역방향-서브트랙션된 (BMT-특이성) cDNAs를 Cy3 또는 Cy5로 표지하고 이어 동일한 마이크로어레이 상의 cDNAs와 공동-혼성화를 실시하였다. Cy3 및 Cy5 표지 자체에서 초래되는 시그널 차이를 정규화하기 위하여, Cy3 및 Cy5에 의한 역표지를 목적으로 다른 혼성화 세트를 준비하였다. 예상된 바와 같이, 혼성화 시그널의 신속한 시점을 통하여, DC 서브트랙션된 라이브러리로부터 유래된 대부분의 스팟은 DC 특이성을 나타냄을 알 수 있었고, 이중으로 표지된 것으로부터 DC 특이성을 나타내는 것이 검출되지 않았으며 DC-특이성 프로브에 의해 강하게 혼성화 되었다. 이러한 결과와는 반대로, 공지된 CD 유전자의 대부분은 DC-특이성 프로브에 의해 거의 검출되지 않았고, 단지 몇몇의 유전자만 BMT-특이성 프로브에 의해 강하게 검출되어, DC-특이성을 나타내지 않음을 알 수 있다.

<111> 1,920개의 클론 중, 1,140개의 클론이 높은 DC-특이성 시그널 (DC/BMT의 역치 비율 > 3)을 나타내어 이들을 선별하였다. 분석 대상의 클론의 수를 최소화 하기 위하여, 중복된 클론을 스크리닝 아웃 하였다. 이를 위하여, 74개의 클론을 무작위적으로 선별하고 서열 분석을 하였다. 서열 분석된 74개의 클론 중, 31개의 클론이 독특한 유전자로 규명되었다. 다음의 유전자들이 가장 빈도수가 높게 규명되었다: Ig-수퍼패밀리, 미토콘드리아 유전자 (COI 및 COIII, 12S rRNA, 16S rRNA 및 시토크롬 b), MHC 클래스 II DR 알파, 매트릭스 메탈로프로테아제 12 (MMP-12), 오스테오폰틴 (Eta-1), 어넥신 A2 및 α -튜블린. 상기한 클론의 조합된 중복성은 서열 분석된 클론의 62%를 차지하기 때

문에, 중복된 클론을 스크리닝 아웃하기 위하여 상기한 유전자의 풀을 이용하여 역-혼성화를 실시하였다. 이에, 300개의 cDNA 클론에 대하여 서열 분석을 하였고, 유전자 규명을 위하여 BLAST 서치를 하였다. 결국, 69개의 비중복성 유전자가 규명되었고, 이들 중 63개의 유전자가 공지된 단백질을 인코딩하는 것으로 밝혀졌고, 6개는 신규한 서열로 밝혀졌으며 이들은 GenBank 데이터베이스에서는 일치된 서열이 없었으며 이들 중 일부는 인간의 지놈 서열에서 일치된 서열이 있었다 (참조: 표 1). 각각의 클론의 DC에 대한 특이성은 분별 혼성화로부터 얻은 DC/BMT 시그널 세기의 비율로부터 고안하였다. 이들 중 일부는 중복된 클론을 스크리닝 아웃한 다음에도 보다 높은 빈도수로 검출되었다. Ig 슈퍼 패밀리 단백질 (Z231G)은 DC-특이성이 높을 뿐만 아니라 DC-관련 메시지 중에서 명백한 풍부성을 나타냄을 알 수 있다. 본 발명을 통하여, MoDCs와 관련되는 것으로 알려진 유전자 (26, 28 및 29) 뿐만 아니라, 신규한 DC-관련 유전자가 규명되었으며, 이는 Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Z391G), CD20-유사 전구체, 당단백질 nmb (GPNMB), TGF β -유도 단백질 (TGFB1), 골수성 DAP12-관련 렉틴 (MDL-1) 및 6개의 비-일치 유전자 등을 포함한다. 6개의 비-일치 유전자를 각각 "Crea 2, Crea 7, Crea 11, Crea 12, Crea 13 및 Crea 14"라고 명명하였으며, 그 염기 서열은 서열 번호 1-6에 각각 나타나 있다.

<112> DC 아군의 DC-관련 유전자 발현 양상

<113> DC/BMT 분별 마이크로어레이 분석을 통해 규명된 DC-관련 유전자에 대하여, 마이크로어레이 HI380 (참조: 표 2) 및 반-정량화 RT-PCR (참조: 도 3)을 이용하여 4종의 DC 아군 및 다른 백혈구에서의 발현 양상을 조사하였다. 또한, CCR1, CCR7, DC-Lamp, E-

캐드헤린, 랑게린 등과 같은 다른 유전자에 대해서도 발현 양상을 조사하였다. 표 2 및 도 3에서 볼 수 있듯이, 마이크로어레이 분석 결과는 정량화 RT-PCR에서 얻은 결과와 일치되었다.

<114> 계통 차이로부터 예상된 바와 같이, 가장 큰 차이는 CD11c⁻ 림포이드성 DCs 및 엑스 비보 생성 골수성 DCs 사이에서 발견되었다. 초기 마이크로어레이 분석으로부터 밝혀진 DC-관련 유전자의 대부분, 예를 들어, α - 및 β -튜블린, 오스테오펀틴 (Eta-1), 당단백질 nmb (GPNMB), MCP4, 라이소좀 산 리파아제, 에놀라아제 1, 티모신 β 4, 페리틴 L-사슬, 어백신 A2, VAMP8 및 GABARAP는 CD11c⁻ DCs에서는 크게 발현되지 않았다 (표 2 및 도 3). 한편, 성숙화 T 및 B 세포 기능에 필수적인 인터페론 조절 인자 4 (IRF-4, 참조: 39)는 CD11c⁻ DCs에서 고발현 되었다. CD11c⁻ DCs는 인간의 혈액 내의 I 형 인터페론의 주요한 생산자이다 (40-43). IRF4 뿐만 아니라, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 (DRP-2) 및 5-리폭시게나아제 활성화 단백질 (FLAP)도 CD11c⁻ DCs에서 뚜렷하게 검출되었다.

<115> CD11c⁻ DCs에서 관찰되는 것과 같이 차이가 뚜렷하지 않지만, 3종의 골수성 DCs (CD1a⁺ DCs, CD14⁺ DCs 및 MoDCs)에서도 DC-관련 유전자의 발현 양상이 어느 정도 차이가 있었다 (표 2 및 도 3). 예를 들어, TARC, IRF4, CCR7 및 DC-Lamp는 2종의 DCs, 즉 MoDCs 및 CD1a⁺ DCs에서도 고발현 되었다. 그러나, CD14⁺ DCs에서, 상기한 유전자의 발현 정도는 비-DC 군과 비교하여 거의 유사하였다. 한편, MCP1, Eta-1, TGFBI, 팩터 XIIIa, 만노스 수용체, Ig 슈퍼 패밀리 (Z39IG) 등은 CD14⁺ DCs에서 비교적 뚜렷하게 검출되었다. 또한, S100B, MMP-12 및 CD1b의 발현은 CD1a⁺ DCs에서 상당한 정도이지만, 이 유전자들이 CD1a⁺ DC에만 특이적으로 발현되는 것으로 판단되지는 않는다. 9

일체의 MoDCs에서 상기 유전자들의 비교적 낮은 발현은 DCs의 성숙화 정도의 차이에 따른 것으로 판단되며, 이러한 판단은 이들 유전자가 MoDC의 성숙과 관련되어 있다는 종전의 연구 결과 (26-29 및 39)에 기초한 것이다. 비교적 낮은 DC/BMT 비율 (<6.0)을 나타내는 티모신 $\beta 4$, BAP31 및 GABARAP와 같은 몇 종의 유전자들이 정량화 RT-PCR 분석에서는 DC-특이성을 나타내지 않은 이유는 명확하지 않다. 그럼에도 불구하고, 본 실험에서 가장 낮은 DC/BMT 비율 (3.1)을 나타내는 DORA 유전자 (표 1 및 도 3)가 다른 발명자들에 의한 연구에서 DC-특이성을 갖는 것으로 스크리닝 되었다는 발표를 고려하면, 본 실험에서 DC/BMT 비율이 상기한 범위에 있는 유전자 역시 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다. 인간의 골수성 DCs는 다양한 소스, 예를 들어 혈액 단핵구 및 CD34⁺ 조혈 줄기세포로부터 발달한다. 상이한 전구체 및 상이한 조직-사이토카인 미세 환경으로부터 파생할 수 있듯이, 골수성 3 종의 DC 아군 (CD1a⁺ DCs, CD14⁺ DCs 및 MoDCs)은 그들의 유전자 조절이 어느 정도 서로 상이 하였다. 표 2에 기재된 데이터에 따르면, 상기한 골수성 DC 아군들에서의 차이는 "근소한 것에서부터 상당한 것"까지의 범위에 있었으며, 이는 상기 DC 아군들이 공통된 기능과 상이한 기능을 갖고 있음을 시사하는 것이다. 가장 명백한 차이는 키모카인 및 키모카인 수용체의 발현 정도였고, 이는 상기한 DC 아군들이 트래픽킹 (trafficking) 특성에서 크게 차이가 있음을 보여 준다. TARC 및 CCR7의 독특한 상향-조절을 나타내는 MoDCs 및 CD1a⁺ DCs는 조직으로부터 림프절로 이동하여 Ag을 T 세포로 운반하는 이동성 DCs으로 판단되며, 이러한 결론은 이미 발표된 문헌 (49)을 참조하면 더욱 타당하다. CD14⁺ DC는 조직 DC의 독특한 특징을 나타내었으며, 이는 "CCR7의 미발현 및 CCR1의 CCR7 보다 고발현" 양상 그리고 "TARC 미발현 및 MCP-1과 Eta-1의 고발현" 양상으로 확인되었다.

<116> 상기한 내용을 요약하면, 골수성 DCs에서 고발현 되는 유전자는 항원-유입/프로세싱/제시, 세포 변형 또는 키모타시스 (chemotaxis)에 관여하는 유전자들이었다. MoDCs에서 고발현되는 것으로 알려진 유전자의 대부분, 예를 들어, TARC, 페리틴 L-사슬, 라이소좀 산 리파아제, α - 및 β -튜블린, 오스테오펀틴 (Eta-1) 등은 CD11c⁻ DCs에서 성숙화 정도와 무관하게 뚜렷한 발현을 나타내지 않았다. 한편, 특정 전사 인자 및 MHC 클래스 II 분자, 예컨대, 인터페론 조절 인자 (IRF4), HLA-DR은 골수성 DCs 및 CD11c⁻ DCs에서 유사한 발현 양상을 나타내었다.

<117> *성숙화 정도에 따른 DC-관련 유전자의 발현 양상*

<118> DC의 분화/성숙화 정도가 DC-관련 유전자의 발현에 어떠한 영향을 미치는 지를 조사하기 위하여, 미성숙 골수성 DCs 및 성숙화된 CD11c⁻ DCs에 대한 마이크로어레이 분석을 실시하였다 (표 3). CD40L 및 IL-3에 의해 5일 동안 성숙화 배양을 하였으나, CD11c⁻ DCs는 완전히 분화된 골수성 DCs에서 공통적으로 상향-조절되는 메시지를 고발현하지는 않았다. 따라서, α - 및 β -튜블린, Eta-1, GPNMB, MCP4, 라이소좀 산 리파아제, 에놀라아제 1, 티모신 β 4, 페리틴 L-사슬, 어넥신 A2, VAMP8 및 GABARAP는 진정한 골수성 DC-관련 유전자로서 판단된다. 흥미롭게도, 알레르기 염증에 관여하는 FLAP (44)의 고발현은 성숙화의 정도에 한정되지 않았으며, CD11c⁻ DCs를 포함하는 DC 아군에 대하여 비교적 공통적으로 나타났다. 9일째의 MoDCs에서 FLAP 과발현은 예외적으로 발생하지 않았고, 이와 같은 결과는 반복적으로 확인되었다. CD1a⁺ DCs, CD11c⁻ DCs 및 CD14⁺ DCs에서 IRF4의 발현은 DC 성숙화에 따라 뚜렷하게 하향-조절되었으나, MoDCs에서는 완전하게 반대되는 양상이 나타났으며 (표 3), 이와 같은 결과는 IRF4 발현 조절

이 세포 특이성 (심지어는 골수성 DCs 사이에서도)을 갖고 있음을 보여준다. 그러나, 다른 실험 세트에서, IRF4 발현이 18일째의 CD1a⁺ DCs에서 상당히 높게 나타났고, 이와 같은 결과는 IRF4 발현의 조절이 성숙화와 연관된 시그널에 의해 이루어짐을 보여 준다. DC-관련 메시지의 대부분은 미성숙 DCs에서 뚜렷하게 확인되지 않으나, DC 아군의 성숙화와 관련되는 것으로 판단된다. 예를 들어, MMP12, Z39IG, GPNMB, Eta-1 등은 미성숙 DCs에서는 1 이하의 DC/BMT 비율을 나타내었다. 그러나, 관련된 DCs의 미성숙 단계에서 계속적으로 (constitutively) 과발현되는 유전자들이 있었다 (DC/BMT > 1). 이러한 유전자는 MoDCs에서의 TARC, 4종의 DC 아군 모두에서 MHC 클래스 II DR α , MoDCs에서 CD1b 및 2종의 CD34⁺-유래 DCs에서 CD20-유사 전구체 및 MRC1, MoDCs에서의 라이소좀 산 리파아제 및 TGFBI를 포함한다. 어떠한 경우에 있어서는, DC 아군-특이성 발현 양상이 DC 발달의 초기 단계에서부터 명확하게 관찰되었다. 따라서, CD14⁺ DCs에서 MCP1의 고발현 및 CD1a⁺ DCs에서의 DC-Lamp의 고발현은 상기한 경우에 해당이 되는 것이며, 이와 같은 결과는 공통된 전구체로부터 명확하게 다른 경로를 통하여 DC가 발달이 됨을 시사하는 것이다.

<119> 미성숙된 DC에서 DC-Lamp 발현의 부재 또는 낮은 정도는 기존에 연구결과를

통하여 MoDC (54), CD1a⁺ DC (55) 및 CD11c⁻ DC (40)에서 이미 확인되었다. 본 발명의 마이크로어레이 분석은 어떠한 단계에서도 CD14⁺ DCs에서 DC-Lamp 발현이 발생하지 않는다는 것을 보여 준다. 이와는 반대로, CD1a⁺ DCs에서는 배양 8일째에 DC-Lamp의 발현이 증가되었다 (도 1B, 표 3). 그러나, CD14⁺ DCs (18일째 배양)와 CD1a⁺ DCs (8일째 배양)의 면역-형질을 비교하여 보면, CD14⁺ DCs (18일째 배양)를 CD1a⁺ DCs (8일째 배양)보다 덜 성숙된 것으로 판단하는 것은 적합하지 않다. 이러한 측면에서, 본 실험의 데이터는 CD14⁺ DCs를 공통된 골수성 전구체로부터 유래된 특이한 DCs로 간주하여야 함을 시사한다. 이러한 측면에서, 본 실험의 데이터는 CD14⁺ DC는 CD1a⁺ DC와 공통된 골수성 전구체로부터 유래되었지만 CD1a⁺ DC와는 다른 DC로 간주하여야 함을 시사한다.

<120> LC 발달의 TGF β 의존성은 *인 비보* (56) 및 *인 비트로* (57 및 58)에서 잘 규명되어 있다. CD1a⁺ DCs는 배양액에 TGF β 가 공급되는 경우에는 골수성 전구체 및 다른 종류의 골수성 DCs (예: 혈액 CD11c⁺ DCs, CD14⁺ DCs 및 MoDCs)로부터 발달될 수 있다 (58, 59 및 60). 본 실험에서 DC-관련 유전자로서 TGF β -유도 단백질 (TGFBI)가 확인된 것은 TGF β 가 DCs에서 생성됨을 예상케하는 것으로서, 이는 어떠한 골수성 DCs의 배양물에서도 어느 정도 CD1a⁺ DC가 발달이 됨을 시사하는 것이다. 본 발명은 TGFBI 뿐만 아니라, 신규한 DC-관련 유전자를 규명한다. 본 발명에서 규명된 유전자는 Ig 수퍼패밀리 단백질 (Z39IG, 참조 문헌: 62), 당단백질 nmb (GPNMB, 참조 문헌: 63), CD20-유사 전구체 (참조 문헌: 64) 및 골수성 DAP12-관련 렉틴 (MDL-1, 참조 문헌: 65)을 포함한다. 상기한 유전자들은 세포 표면에서 막단백질을 인코딩하거나 분비성 단백질을 인코딩

하는 것으로서 DC 생물학에서 중요한 역할을 할 것으로 추측되고 있으나, 정확한 기능은 미지이다.

<121> 어떤 DC-관련 유전자의 상향-조절은 DC 아군과 특정 질병 사이의 연관성을 설명할 수 있게 한다. 이러한 유전자는 아토피성 피부염에 관여하는 CD1a⁺ DCs의 고친화성 IgE 수용체 α (FcERI) 및 CD36 (참조 문헌: 66), 비강 알레르기에 관여하는 CD11c⁺ DCs의 FLAP (참조 문헌: 67), 그리고 장기성 홍반 상승 (erythema elevatum diutinum)에 관여하는 CD14⁺ DCs의 Eta-1을 포함한다.

<122> 다른 공여자에서 DC-관련 유전자의 발현

<123> 공여자의 차이의 영향을 조사하기 위하여, 본 발명자들은 다른 공여자로부터 유래된 4종의 DC 아군의 다른 세트를 구축하고 DCs의 두 번째 세트에서부터 유래된 cDNA 프로브를 이용하여 마이크로어레이 분석을 실시하였다. 표 4에서 볼 수 있듯이, 대표적인 유전자들 대부분은 서로 다른 공여자에서 "비교적 일치"되는 발현 양상을 나타내었다. 상기 "비교적 일치성"은 TARC, Ig 수퍼 패밀리 (Z39IG), MCP1, TGFBI, CCR1, DC-Lamp, E-카드헤린 및 DEC205에서 특히 잘 관찰되었다. 그러나, Eta-1, MRC1 및 IRF4의 발현에 대해서 "비교적 일치성"은 상술한 유전자에 비해 강하지는 않았다. 새롭게 규명된 DC-관련 유전자 중에서, MDL-1도 서로 다른 공여자 세트에서 일치성을 나타내었다.

<124>

【표 1a】

유전자 번호	유전자명	GenBank 승인 번호	스크리닝 중복	BMT 강도	DC 강도	DC/BMT
1	알파-튜블린*	K00558	4	1312	37669	28.7
2	S100 칼슘-결합 단백질, 베타 (S100B)	NM_006272	2	1036	28546	27.6
3	매트릭스 메탈로프로테아제 12 (MMP12)*	XM_006272	5	1402	38171	27.2
4	흉선과 활성화-조절 키모카인 (TRAC)	D43767	1	1109	26047	23.5
5	마이오신 포스파타아제, 표적 서브유닛 1 (MYPT1)	XM_006578	1	2376	43787	18.4
6	CD1B 항원 (CD1B)	XM_002174	4	1286	20464	16.1
7	CD20-유사 전구체	NM_022349	15	1746	27393	15.7
8	Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Z39IG)*	XM_010265	23	1430	18815	13.2
9	MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬	U77589	1	1071	13284	12.4
10	당단백질 nmb	XM_004781	3	1170	13914	11.9
11	오스테오폰틴*	NM_000582	6	2964	33178	11.2
12	5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 (FLAP)	M63262	6	1126	12316	10.9
13	만노오스 수용체 C 타입 1 (MRC1)	NM_002438	3	1284	13960	10.9
14	시토크롬 b-245, 베타 폴리펩타이드 (CYBB)	NM_000397	3	1050	11226	10.7
15	단핵구 키모탁틱 단백질 4 (MCP4;SCYA13)	XM_008411	4	1429	14456	10.1
16	MHC 클래스 II HLA-DR-알파 사슬*	XM_004209	8	1454	14578	10.0
17	MHC 클래스 II HLA-DR-베타 사슬	M26038	6	1607	14838	9.2
18	RNase A 패밀리 1(RNASE1)	XM_012375	2	2413	21588	8.9
19	디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2	D78013	4	1997	17249	8.6
20	ATP 합성효소 6 (MTATP6;미토콘드리아)	AF347015	11	3394	26657	7.9
21	16S 리보솜 RNA (미토콘드리아)*	AF347015	6	2683	21015	7.8
22	리소솜 산 리파아제	U08464	22	1043	7756	7.4
23	시스타틴 A (CSTA)	NM_005213	4	1286	9437	7.3
24	항원 CD36	M98399	8	1404	9501	6.8
25	면역글로불린 천사 인자 2 (IFT2)	XM_012756	1	1719	11613	6.8
26	단핵구 키모탁틱 단백질 1 (MCP1;MCAF)	M24545	2	2311	14802	6.4
27	베타-액틴	BC004251	1	715	4561	6.4
28	형질전환 성장 인자, 베타-유도성, 68kD (TGFBI)	NM_000358	2	1318	8002	6.1
29	시토크롬 b (MTCYB; 미토콘드리아)*	AF347015	2	3660	21907	6.0
30	칼모듈린	D45887	3	752	4383	5.8
31	마이엘로이드 DAP12-관련 액틴 (MDL-1)	AJ271684	1	1345	7736	5.8
32	시토크롬 C 옥시다아제 II (CO II; 미토콘드리아)	AF347015	19	2555	14572	5.7
33	베타-튜블린	J00314	1	1235	6826	5.5
34	B 세포 링커 단백질 (BLNK)	NM_013314	2	1615	8909	5.5
35	활성화 RNA 중합효소 II 전사 보조인자 4 (PC4)	XM_011218	2	1980	10656	5.4
36	시토크롬 C 옥시다아제 I (CO I;미토콘드리아)*	AF347015	4	2499	13410	5.4
37	에놀라아제 1, 알파 (ENO1)	NM_001428	1	520	2607	5.0

<125> 【표 1b】

유전자 번호	유전자명	GenBank 승인 번호	스크리닝 중복	BMT 강도	DC 강도	DC/BMT
38	90 kDa 열 충격 단백질 (hsp90)	M16660	1	2040	10213	5.0
39	인터루킨 2 수용체, 감마	NM_000206	1	1161	5741	4.9
40	타이로신, 베타 4, X 염색체 (TMSB4X)	NM_021109	5	1649	8138	4.9
41	페리틴, 라이트 폴리펩타이드	BC004245	3	2527	12327	4.9
42	NADH 탈수소효소 서브유닛 4 (MTND4; 미토콘드리아)	AF347015	1	3738	18023	4.8
43	부속 단백질 BAP31/BAP29	NM_005745	5	966	4598	4.8
44	아넥신 A2 (ANXA2)*	NM_004039	8	1221	5506	
45	이소시트레이트 탈수소효소 3 (NAD ⁺) 알파 (IDH3A)	XM_007580	1	1754	7766	4.4
46	마이크로솜 글루타티온 S-전이효소 2 (MGST2)	XM_003461	1	1540	6767	4.4
47	12S 리보솜 RNA (미토콘드리아)*	AF347015	4	1439	6317	4.4
48	시토크롬 C 옥시다아제 III (COIII; 미토콘드리아)*	AF347015	11	1913	8318	4.3
49	응고 인자 XIII, A1 폴리펩타이드	AK001685	1	1009	4225	4.2
50	GABA(A) 수용체-관련 단백질 (GABARAP)	NM_007278	2	1221	4666	3.8
51	세린/트레오닌 키나아제 15	BC002499	1	1369	5048	3.7
52	포낭-관련 막 단백질 8 (VAMP8)	XM_002561	2	1976	7267	3.7
53	니카스트린	AF240486	1	1359	4997	3.7
54	퓨린성 수용체 (패밀리 A 그룹 5)	XM_007212	1	1592	5833	3.7
55	Rho GDP 해리 억제 베타 (ARHGDIB)	NM_001175	1	1596	5707	3.6
56	MAD 동중체 2 (MADH2)	XM_008795	1	719	2523	3.5
57	시토크롬 c, 클론 MGC:12367	BC005299	1	1330	4538	3.4
58	MHC 클래스 II HLA-DM-알파-서브유닛 (FcERI)	XM_004220	1	1403	4552	3.2
59	고 친화성 IgE 수용체 알파-서브유닛 (FcERI)	X06948	1	116	369	3.2
60	MKN51	X80199	1	1405	4431	3.2
61	DORA 단백질	AJ223183	1	1411	4341	3.1
62	GTP-결합 단백질 (NGB)	XM_005722	1	877	2674	3.0
63	인터페론 조절 인자 4 (IRF4)	NM_002460	1	565	1680	3.0
64	Crea2	NA	2	1437	12646	8.8
65	Crea7	NA	5	2947	15620	5.3
66	Crea11	NA	1	2639	8446	3.2
67	Crea12	NA	1	1449	4928	3.4
68	Crea13	NA	1	1336	9218	6.9
69	Crea14	NA	1	2201	14304	6.5

<126> 상기 표 1a 내지 표 1b는 서브트랙션, 마이크로어레이 및 서열 분석으로부터 동정된 DC-관련 유전자의 목록이다. DC/BMT는 전방향 (DC-BMT) 및 역방향 (BMT-DC) 서브트랙티드 프로브에 의해 결정된 형광 강도의 비율을 나타낸다. (*) 표시는 중복의 클론 수를 최소화하기 위한 스크리닝-아웃 실험에 사용된 DNA 클론을 의미한다. NA는 not applicable의 단축어이다.

<127>

【표 2a】

유전자 번호	유전자명	DCs 및 BMT 비율 (DCs/BMT)					
		BMT 강도	CD34 ⁺ 세포	MoDC	CD1A ⁺ DC	CD11c-DC	CD14 ⁺ DC
				Day 9	Day 18	Day 0	Day 18
1	알파-튜블린	13617	0.2	2.9	2.9	0.2	1.7
2	SI00B	3416	0.7	0.9	<28.6>	0.7	<5.6>
3	MMP12	1420	0.9	0.7	<4.9>	0.5	0.3
4	TARC	4113	0.5	<20.2>	<24.0>	0.6	0.8
5	MYPT1	3805	0.4	1.0	2.0	0.4	<4.9>
6	CD1B	3107	0.4	2.4	<17.6>	0.8	1.5
7	CD20-유사	3171	0.4	0.8	<18.0>	1.7	<20.7>
8	Ig 슈퍼패밀리 Z391G	2016	0.4	0.9	2.9	0.6	<16.4>
9	MHC DO-알파	11817	0.2	3.2	<9.6>	0.5	2.0
10	GPNMB	3290	0.5	1.7	1.2	0.8	<5.0>
11	Eta-1	2409	0.3	3.2	<6.3>	0.5	<11.8>
12	FLAP	8060	0.3	0.9	<8.1>	3.0	<5.4>
13	MRC1	2097	0.5	1.6	3.8	0.7	<6.1>
15	MCP4	3454	0.3	2.9	<4.5>	0.4	<5.6>
16	MHC DR-알파	22066	0.7	2.2	3.8	2.4	1.3
17	MHC DR-베타	20288	0.2	0.7	2.7	1.2	1.4
18	RNase1	3684	0.2	1.6	1.1	0.4	<11.5>
19	DRP-2	1981	<6.1>	<8.9>	2.4	<5.9>	1.1
22	리소좀 산 리파아제	2801	0.3	<4.2>	<8.1>	0.3	<6.1>
23	시스테인 A	3317	0.2	0.8	<17.4>	0.3	<4.3>
24	CD36	1651	0.4	0.8	2.9	0.8	1.2
25	ITF2	4145	0.4	1.1	0.8	1.2	1.3
26	MCP1	10899	0.1	0.7	0.5	0.2	<9.6>
28	TGFB I	3179	0.4	1.8	3.4	1.5	<9.2>
30	칼모듈린	6950	0.9	<5.1>	1.8	0.4	1.6
31	MDL-1	3245	0.3	1.0	1.3	0.6	1.9
33	베타-튜블린	12754	0.3	2.8	2.8	0.3	2.7
34	BLNK	6112	0.2	0.5	0.8	0.4	0.5
35	PC4	9653	0.2	0.4	0.9	0.2	0.4
37	에놀라아제 1	14759	0.1	3.8	1.4	0.1	1.5
38	hsp90	8933	0.2	0.6	1.1	0.3	0.8
39	IL2Rg	5573	0.3	0.5	0.7	0.2	0.2
40	타이모신, 베타-4	19186	0.3	1.9	3.4	0.1	1.6
41	페리틴	31033	0.1	3.7	1.9	0.0	<5.1>
43	BAP31/BAP29	9919	0.6	1.0	1.1	0.4	1.3
44	아벡신 A2	12178	0.1	3.1	<4.8>	0.1	2.2
45	IDH3A	2298	0.4	0.6	0.6	0.9	0.5
46	MGST2	3060	0.3	1.0	3.5	0.5	3.5
49	인자 X III	2110	0.3	1.0	0.7	0.5	3.0
50	GABARAP	9150	0.1	1.4	1.3	0.2	2.0

<128> 【표 2b】

유전자 번호	유전자명	DCs 및 BMT 비율 (DCs/BMT)					
		BMT 강도	CD34 ⁺ 세포	MoDC	CD1A ⁺ DC	CD11c-DC	CD14 ⁺ DC
				Day 9	Day 18	Day 0	Day 18
51	세린/트레오닌 키나아제 15	2595	0.4	1.3	1.6	0.7	1.4
52	VAMP8	9344	0.1	2.8	<5.1>	0.3	<4.2>
53	니카스트린	3652	0.3	0.9	0.7	0.6	0.7
54	퓨린성 수용체	1901	0.4	1.0	3.1	0.6	1.9
55	ARHGDIB	23059	0.1	0.2	1.0	0.1	2.0
56	MAD 동중체 2	2167	0.5	0.9	0.8	0.6	0.7
58	MHC DM-알파	8207	0.4	1.9	<4.1>	0.6	2.8
59	FcERI	2989	0.3	0.7	1.9	0.3	0.7
60	MLN51	15001	2.2	1.4	0.9	1.9	1.4
61	DORA	5405	0.3	0.9	<4.0>	0.4	1.8
62	GTP-결합 단백질	3838	0.2	1.0	1.1	0.6	0.7
63	IRF4	2005	0.5	<7.9>	2.2	<9.3>	0.4
S1	CCR1	2883	0.2	0.8	0.8	0.3	1.6
S2	CCR7	9952	0.1	3.1	1.5	0.1	0.1
S3	DC-Lamp	3440	0.3	<7.4>	<6.3>	0.4	0.4
S4	E-카드헤린	3589	0.4	1.0	1.0	0.9	0.9
S5	DEC205 (CD205)	2831	0.2	2.9	1.6	0.8	0.7
S6	만노오스 수용체 (CD206)	2319	0.5	1.8	<6.6>	0.4	<8.6>
S7	랑게린 (CD207)	3482	0.3	1.2	<5.9>	0.8	1.0
S8	DC-사인 (CD209)	2305	0.3	1.0	0.8	0.4	0.9

<129> 상기 표 2a 내지 표 2b는 마이크로어레이에 의한 DC 아군에서의 DC-관련 유전자 발현 분석을 나타낸다. BMT 강도는 5개의 다른 실험 세트에서의 B, Mc 및 T 세포의 평균 시그널 강도를 의미한다.

<130>

【표 3】

유전자 번호	유전자명	DC 및 BMT의 비율							
		MODC		CD1a ⁺ DC		CD11c ⁺ DC		CD14 ⁺ DC	
		Day 7	Day 9	Day 8	Day 18	Day 0	Day 5	Day 8	Day 18
2	S100B	1.4	0.9	1.9	28.6	0.7	0.9	0.9	5.6
3	MMP12	0.6	0.7	0.4	4.9	0.5	0.7	0.5	0.3
4	TRAC	2.0	20.0	0.7	24.0	0.6	0.9	0.7	0.8
5	MYPT1	0.6	1.0	0.6	2.0	0.4	0.4	1.0	4.9
6	CD1B	1.5	2.4	1.4	17.6	0.8	0.9	0.7	1.5
7	CD20-유사	1.9	0.8	6.3	18.0	1.7	0.6	6.2	20.7
8	Ig 슈퍼패밀리 Z39IG	0.4	0.9	0.3	2.9	0.6	0.8	0.5	16.4
9	MHC DQ-알파	1.2	3.2	0.8	9.6	0.5	0.5	1.0	2.0
10	GPNMB	0.4	1.7	0.7	1.2	0.8	0.7	1.0	5.0
11	Eta-1	0.8	3.2	0.4	6.3	0.5	0.5	0.7	11.8
12	FLAP	2.7	0.9	6.8	8.1	3.0	4.9	7.0	5.4
13	MRC1	0.9	1.6	2.1	3.8	0.7	1.0	1.2	6.1
15	MCP4	1.1	2.9	0.3	4.5	0.4	0.6	1.2	5.6
16	MHC DR-알파	2.6	2.2	3.5	3.8	2.4	3.3	3.9	1.3
17	MHC DR-베타	1.4	0.7	1.8	2.7	1.2	0.7	1.2	1.4
18	RNase1	0.3	1.6	0.3	1.1	0.4	0.5	0.5	11.5
19	DRP-2	0.9	8.9	6.4	2.4	5.9	5.7	7.9	1.1
22	리소좀 산 리파아제	3.4	4.2	0.3	8.1	0.3	0.4	0.5	6.1
23	시스테인 A	0.5	0.8	0.3	17.4	0.3	0.4	0.4	4.3
24	CD36	0.4	0.8	0.8	2.9	0.8	0.8	0.9	1.2
26	MCP1	0.3	0.7	0.2	0.5	0.2	0.3	3.3	9.6
28	TGFBI	1.8	1.8	0.5	3.4	1.5	0.9	0.7	9.2
30	칼모듈린	0.8	5.1	0.5	1.8	0.4	0.7	0.6	1.6
31	MDL-1	0.4	1.0	0.4	1.3	0.6	0.8	0.7	1.9
33	베타-튜블린	1.1	2.8	0.4	2.8	0.3	0.3	0.6	2.7
37	에놀라아제 1	0.6	3.8	0.3	1.4	0.1	0.1	0.4	1.5
40	타이모신, 베타 4	1.2	1.9	0.3	3.4	0.1	0.3	0.6	1.6
41	페리틴	1.3	3.7	0.1	1.9	0.0	0.1	0.3	5.1
44	아텍신 A2	0.4	3.1	0.1	4.8	0.1	0.1	0.3	2.2
46	MGST2	0.6	1.0	0.6	3.5	0.5	0.4	1.1	3.5
49	인자 X III	0.3	1.0	0.4	0.7	0.5	0.7	0.8	3.0
52	VAMP8	2.0	2.8	0.6	5.1	0.3	0.2	1.3	4.2
54	퓨린성 수용체	0.4	1.0	0.6	3.1	0.6	0.6	1.0	1.9
55	ARHGD1B	0.1	0.2	0.1	1.0	0.1	0.1	0.3	2.0
58	MHC DM-알파	0.8	1.9	1.3	4.1	0.6	0.4	2.2	2.8
61	DORA	1.7	0.9	0.5	4.0	0.4	0.6	0.7	1.8
63	IRF4	0.3	7.9	10.0	2.2	9.3	0.9	5.8	0.4
S1	CCR1	0.3	0.8	0.3	0.8	0.3	0.3	0.4	1.6
S2	CCR7	0.1	3.1	0.3	1.5	0.1	0.1	0.1	0.1
S3	DC-Lamp	0.3	7.4	1.4	6.3	0.4	0.8	0.5	0.4
S4	E-카드헤린	0.5	1.0	0.6	1.0	0.9	0.9	0.5	0.9
S5	DEC205 (CD205)	0.4	2.9	0.3	1.6	0.8	0.6	0.5	0.7
S6	만노오스 수용체 (CD206)	1.1	1.8	3.1	6.6	0.4	0.5	2.0	8.6
S7	랑게린 (CD207)	0.4	1.2	0.5	5.9	0.8	0.7	0.6	1.0

<131> 상기 표 3은 각 DC 아군의 다른 성숙 단계에서의 DC-관련 유전자 발현의 분석을 나타낸다. 성숙 단계와 비성숙 단계 간에 작은 차이를 보이는 유전자는 상기 표 2의 목록으로부터 제외되었다.

【발명의 효과】

<132> 본 발명은 신규한 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드 및 이에 의해 코딩되는 폴리펩타이드를 제공한다. 또한, 본 발명은 수지상 세포, 수지상 세포 아군 및 수지상 세포의 성숙화 정도를 검출할 수 있는 방법 및 이를 실체화한 마이크로어레이를 제공한다.

<133> 참조 문헌

- <134> 1. Hart D.N., Blood. 1997;90:3245-3287
- <135> 2. Banchereau J. et al., Nature. 1998;392:245-252
- <136> 3. Banchereau J. et al., Annu Rev Immunol. 2000;18:767-811
- <137> 4. Ruedl C. et al., Eur J Immunol. 2000;30:2056-2064
- <138> 5. Pashenkov M. et al., Brain. 2001;124:480-492
- <139> 6. Bernhard H. et al., Exp Hematol. 2000;28:365-372
- <140> 7. Zhang Y. et al., Blood. 2000;95:138-146
- <141> 8. Zhang Y. et al., Blood. 1999;93:1208-1220
- <142> 9. Reid S.D. et al., Curr Opin Immunol. 2000;12:114-121

- <143> 10. Grabbe S. et al., Immunol Today. 2000;21:431-433
- <144> 11. Moser M. et al., Nat Immunol. 2000;1:199-205
- <145> 12. Pulendran B. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1999;96:1036-1041
- <146> 13. Steinman R.M. et al., J Exp Med. 2000;191:411-416
- <147> 14. Vieira P.L. et al., J Immunol. 2000;164:4507-4512
- <148> 15. Tanaka H. et al., J Exp Med. 2000;192:405-412
- <149> 16. Langenkamp A. et al., Nat Immunol. 2000;1:311-316
- <150> 17. Patterson S. et al., Nat Immunol. 2000;1:273-274
- <151> 18. Fong L. et al., J Immunol. 1997;159:3113-3117
- <152> 19. Fields R.C. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:9482-9487
- <153> 20. Esche C. et al., Curr Opin Mol Ther. 1999;1:72-81
- <154> 21. Fong L. et al., Annu Rev Immunol. 2000;18:245-273
- <155> 22. Duperrier K. et al., J Immunol Methods. 2000;238:119-131
- <156> 23. Dzionek A. et al., J Immunol. 2000;165:6037-6046
- <157> 24. Strunk D. et al., Blood. 1996;87:1292-1302
- <158> 25. Caux C. et al., Blood. 1996;87:2376-2385
- <159> 26. Hashimoto S. et al., Blood. 1999;94:845-852
- <160> 27. Hashimoto S.I. et al., Blood. 2000;96:2206-2214
- <161> 28. Dietz A.B. et al., Biochem Biophys Res Commun. 2000;275:731-738
- <162> 29. Le Naour F. et al., J Biol Chem. 2001;276:17920-17931

- <163> 30. Kim K. et al., Mol. Cells. 1996;6:684-691
- <164> 31. Bae Y. et al., Mol. Cells. 1995;5:569-578
- <165> 32. Caux C. et al., Blood. 1997;90:1458-1470
- <166> 33. de Saint-Vis B. et al., J Immunol. 1998;160:1666-1676
- <167> 34. McLellan A.D. et al., J Immunol Methods. 1995;184:81-89
- <168> 35. Choi B.K. et al., Diabetes. 2000;49:1459-1467
- <169> 36. Kim I.S. et al., J Biol Chem. 2000;275:23139-23145
- <170> 37. Valladeau J. et al., Eur J Immunol. 1999;29:2695-2704
- <171> 38. Diatchenko L. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1996;93:6025-6030
- <172> 39. Mittrucker H.W. et al., Science. 1997;275:540-543
- <173> 40. Bendriss-Vermare N. et al., J Clin Invest. 2001;107:835-844
- <174> 41. Kadowaki N. et al., J Exp Med. 2001;194:863-869
- <175> 42. Donaghy H. et al., Blood. 2001;98:2574-2576
- <176> 43. Bjorck P. Blood. 2001;98:3520-3526
- <177> 44. Funk C.D. Science. 2001;294:1871-1875
- <178> 45. Vissers J.L. et al., J Leukoc Biol. 2001;69:785-793
- <179> 46. Kadowaki N. et al., J Exp Med. 2000;192:219-226
- <180> 47. Siegal F.P. et al., Science. 1999;284:1835-1837
- <181> 48. Ito T. et al., J Immunol. 2001;166:2961-2969
- <182> 49. Sallusto F. et al., Eur J Immunol. 1999;29:1617-1625

- <183> 50. Ashkar S. et al., Science.2000;287:860-864
- <184> 51. Pacheco L.S. et al., J Cutan Pathol.2000;27:136-140
- <185> 52. Gibran N.S. et al., J Surg Res. 1995;59:378-386
- <186> 53. Gibran N.S. et al., J Surg Res.1997;70:1-6
- <187> 54. de Saint-Vis B. et al., Immunity.1998;9:325-336
- <188> 55. Mohamadzadeh M. et al., J Exp Med. 2001;194:1013-1020
- <189> 56. Borkowski T.A. et al., J Clin Invest. 1997;100:575-581
- <190> 57. Geissmann F. et al., J Exp Med. 1998;187:961-966
- <191> 58. Ito T. et al., J Immunol. 1999;163:1409-1419
- <192> 59. Jaksits S. et al., J Immunol. 1999;163:4869-4877
- <193> 60. Sato K. et al., J Immunol. 2000;164:2285-2295
- <194> 61. Skonier J. et al., DNA Cell Biol. 1994;13:571-584
- <195> 62. Langnaese K. et al., Biochim Biophys Acta. 2000;1492:522-525
- <196> 63. Weterman M.A. et al., Int J Cancer. 1995;60:73-81
- <197> 64. Ishibashi K. et al., Gene. 2001;264:87-93
- <198> 65. Bakker A.B. et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1999;96:9792-9796
- <199> 66. Oppel T. et al., Br J Dermatol. 2000;143:1193-1198
- <200> 67. Jahnsen F.L. et al., J Immunol. 2000;165:4062-4068

【특허청구범위】

【청구항 1】

서열번호 1에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드.

【청구항 2】

서열번호 3에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드.

【청구항 3】

서열번호 4에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드.

【청구항 4】

서열번호 5에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드.

【청구항 5】

서열번호 6에 기재된 염기 서열을 포함하는 수지상 세포-특이 폴리뉴클레오타이드.

【청구항 6】

서열번호 1에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드.

【청구항 7】

서열번호 3에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드.

【청구항 8】

서열번호 4에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드.

【청구항 9】

서열번호 5에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드.

【청구항 10】

서열번호 6에 기재된 염기 서열에 의해 코딩되는 수지상 세포-특이 폴리펩타이드.

【청구항 11】

다음의 단계를 포함하는 수지상 세포의 검출 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 (myosin phosphatase, target subunit ...
1: MYPT1) 유전자, CD20-유사 전구체 (CD20-like precursor) 유전자, Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Ig superfamily protein: Z39IG) 유전자, 당단백질 nmb (glycoprotein nmb: GPNMB) 유전자, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 (5-lipoxygenase activating

protein: FLAP) 유전자, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 (dihydropyrimidinase related protein-2) 유전자, 시스타틴 A (cystatin A: CSTA) 유전자, 면역글로불린 전사 인자 2 (Immunoglobulin transcription factor 2: IFT2) 유전자, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD (transforming growth factor, beta-induced, 68kD: TGFBI) 유전자, 마이엘로이드 DAP12-관련 렉틴 (myeloid DAP12-associating lectin: MDL-1) 유전자, B 세포 링커 단백질 (B cell linker protein: BLNK) 유전자, 활성화 RNA 중합효소 II 전사 보조인자 4 (Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4: PC4) 유전자, 에놀라아제 1 알파 (enolase 1, alpha: ENO1) 유전자, 90 kDa 열 충격 단백질 (90 kDa heat shock protein: hsp90) 유전자, 보조 단백질 BAP31/BAP29 (accessory proteins BAP31/BAP29) 유전자, 이소시트레이트 탈수소효소 3 (NAD⁺) 알파 (isocitrate dehydrogenase 3 (NAD⁺) alpha: IDH3A) 유전자, 마이크로솜 글루타티온 S-전이효소 2 (microsomal glutathione S-transferase 2: MGST2) 유전자, GABA(A) 수용체-관련 단백질 (GABA(A) receptor-associated protein: GABARAP) 유전자, 니카스트린(nicestrin) 유전자, 퓨린성 수용체 (패밀리 A 그룹 5) (purinergic receptor (family A group 5)) 유전자, Rho GDP 해리 억제자 베타 (Rho GDP dissociation inhibitor beta: ARHGDI B) 유전자, MAD 동종체 2 (MAD homolog 2: MADH2) 유전자, MLN51 유전자, 인터페론 조절 인자 4 (interferon regulatory factor 4: IRF4) 유전자, 상기 유전자들의 단편, 서열번호 1로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 4로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 6으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드

또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 12】

다음의 단계를 포함하는 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포의 동정 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 13】

다음의 단계를 포함하는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 동정 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

흉선과 활성화-조절 키모카인 (thymus and activation-regulated chemokine: TARC) 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 (lysosomal acid lipase) 유전자 또는 그의 단편, 칼모듈린

(calmodulin) 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 14】

다음의 단계를 포함하는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 동정 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 (S100 calcium-binding protein, beta: S100B) 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinase 12: MMP 12) 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 (CD1B antigen: CD1B) 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 (MHC class II HLA-DQ-alpha chain: MHC DQ-alpha) 유전자 또는 그의 단편, 오스테오펀틴 (osteopontin: Eta-1) 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모택틱 단백질 4 (monocyte chemotactic protein 4: MCP4) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 어백신

A2 (annexin A2: ANXA2) 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 (vesicle-associated membrane protein 8: VAMP8) 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DM-알파 사슬 (MHC class II HLA-DM-alpha chain: MHC DM-alpha) 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 15】

다음의 단계를 포함하는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 동정 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 (mannose receptor C type 1: MRC1) 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모타틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1

(RNas1) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 1 (MCP 1) 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 16】

다음의 단계를 포함하는 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편과 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계.

【청구항 17】

다음의 단계를 포함하는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

홍선과 활성-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편,

DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

【청구항 18】

다음의 단계를 포함하는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법:

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로 프로테아제 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 유전자 또는 그의 단편, 오스테오펀틴 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모타틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 랑게

린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

【청구항 19】

다음의 단계를 포함하는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하는 방법 :

(a) 세포로부터 수득한 DNA 또는 그들의 단편을 다음의 뉴클레오타이드와 혼성화 반응을 실시하는 단계; 및 (b) 혼성화 여부를 확인하는 단계,

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오펀틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 1 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

【청구항 20】

하기의 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 수지상 세포 검출 용 마이크로어레이:

마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 (myosin phosphatase, target subunit 1: MYPT1) 유전자, CD20-유사 전구체 (CD20-like precursor) 유전자, Ig 슈퍼패밀리 단백질 (Ig superfamily protein: Z39IG) 유전자, 당단백질 nmb (glycoprotein nmb: GPNUMB) 유전자, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 (5-lipoxygenase activating protein: FLAP) 유전자, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 (dihydropyrimidinase related protein-2) 유전자, 시스타틴 A (cystatin A: CSTA) 유전자, 면역글로불린 전사인자 2 (Immunoglobulin transcription factor 2: IFT2) 유전자, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD (transforming growth factor, beta-induced, 68kD: TGFBI) 유전자, 마이엘로이드 DAP12-관련 렉틴 (myeloid DAP12-associating lectin: MDL-1) 유전자, B 세포 링커 단백질 (B cell linker protein: BLNK) 유전자, 활성화 RNA 중합효소 II 전사 보조인자 4 (Activated RNA polymerase II transcription cofactor 4: PC4) 유전자, 에놀라아제 1 알파 (enolase 1, alpha: ENO1) 유전자, 90 kDa 열 충격 단백질 (90 kDa heat shock protein: hsp90) 유전자, 보조 단백질 BAP31/BAP29 (accessory proteins BAP31/BAP29) 유전자, 이소시트레이트 탈수소효소 3 (NAD⁺) 알파 (isocitrate dehydrogenase 3 (NAD⁺) alpha: IDH3A) 유전자, 마이크로솜 글루타티온 S-전이효소 2 (microsomal glutathione S-transferase 2: MGST2) 유전자, GABA(A) 수용체-관련 단백질 (GABA(A) receptor-associated protein: GABARAP) 유전자, 니카스트린(nicestrin) 유전자, 퓨린성 수용체 (페밀리 A 그룹 5) (purinergic receptor (family A group 5)) 유전자

자, Rho GDP 해리 억제자 베타 (Rho GDP dissociation inhibitor beta: ARHGDIB) 유전자, MAD 동종체 2 (MAD homolog 2: MADH2) 유전자, MLN51 유전자, 인터페론 조절 인자 4 (interferon regulatory factor 4: IRF4) 유전자, 상기 유전자들의 단편, 서열번호 1로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 4로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 6으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 21】

하기의 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포의 동정 용 마이크로어레이:

5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 림포이드성 CD11c⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 22】

하기의 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 동정 용 마이크로어레이:

흉선과 활성화-조절 키모카인 (thymus and activation-regulated chemokine: TARC) 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 (lysosomal acid lipase) 유전자 또는 그의 단편, 칼모듈린 (calmodulin) 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 단핵구-유래 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 23】

하기의 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 동정 용 마이크로어레이:

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 (S100 calcium-binding protein, beta: S100B) 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinase 12: MMP 12) 유전자 또는 그의 단편, 흉선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 (CD1B antigen: CD1B) 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 (MHC class II HLA-DQ-alpha

chain: MHC DQ-alpha) 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 (osteopontin: Eta-1) 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 4 (monocyte chemotactic protein 4: MCP4) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 어백신 A2 (annexin A2: ANXA2) 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 (vesicle-associated membrane protein 8: VAMP8) 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DM-알파 사슬 (MHC class II HLA-DM-alpha chain: MHC DM-alpha) 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 24】

하기의 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 동정 용 마이크로어레이:

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 마이오신 포스파타아제 표적 서브유닛 1 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입

1 (mannose receptor C type 1: MRC1) 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 (RNase1) 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모탁틱 단백질 1 (MCP 1) 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 골수성 CD14⁺ 수지상 세포-특이 뉴클레오타이드.

【청구항 25】

인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편이 고체 표면에 고정화된 림포이드성 CD11c⁻ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이.

【청구항 26】

하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 단핵구-유래 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이:

홍선과 활성-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, 디히드로피리미디나아제 관련 단백질-2 유전자 또는 그의 단편, 인터페론 조절 인자 4 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

【청구항 27】

하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD1a⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이:

서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 3으로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, 서열번호 5로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, 매트릭스 메탈로 프로테아제 유전자 또는 그의 단편, 흥선과 활성화-조절 키모카인 유전자 또는 그의 단편, CD1B 항원 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, MHC 클래스 II HLA-DQ-알파 사슬 유전자 또는 그의 단편, 오스테오펀틴 유전자 또는 그의 단편, 단핵구 키모타틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 어넥신 A2 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, DORA 단백질 유전자 또는 그의 단편, DC-Lamp 유전자 또는 그의 단편, 랑게린 (CD207) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

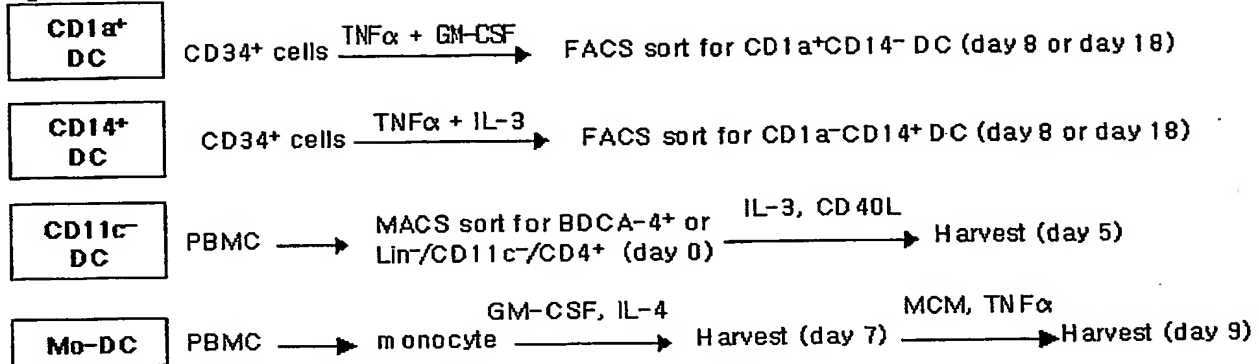
【청구항 28】

하기의 뉴클레오타이드가 고체 표면에 고정화된 골수성 CD14⁺ 수지상 세포의 성숙화 정도를 동정하기 위한 마이크로어레이:

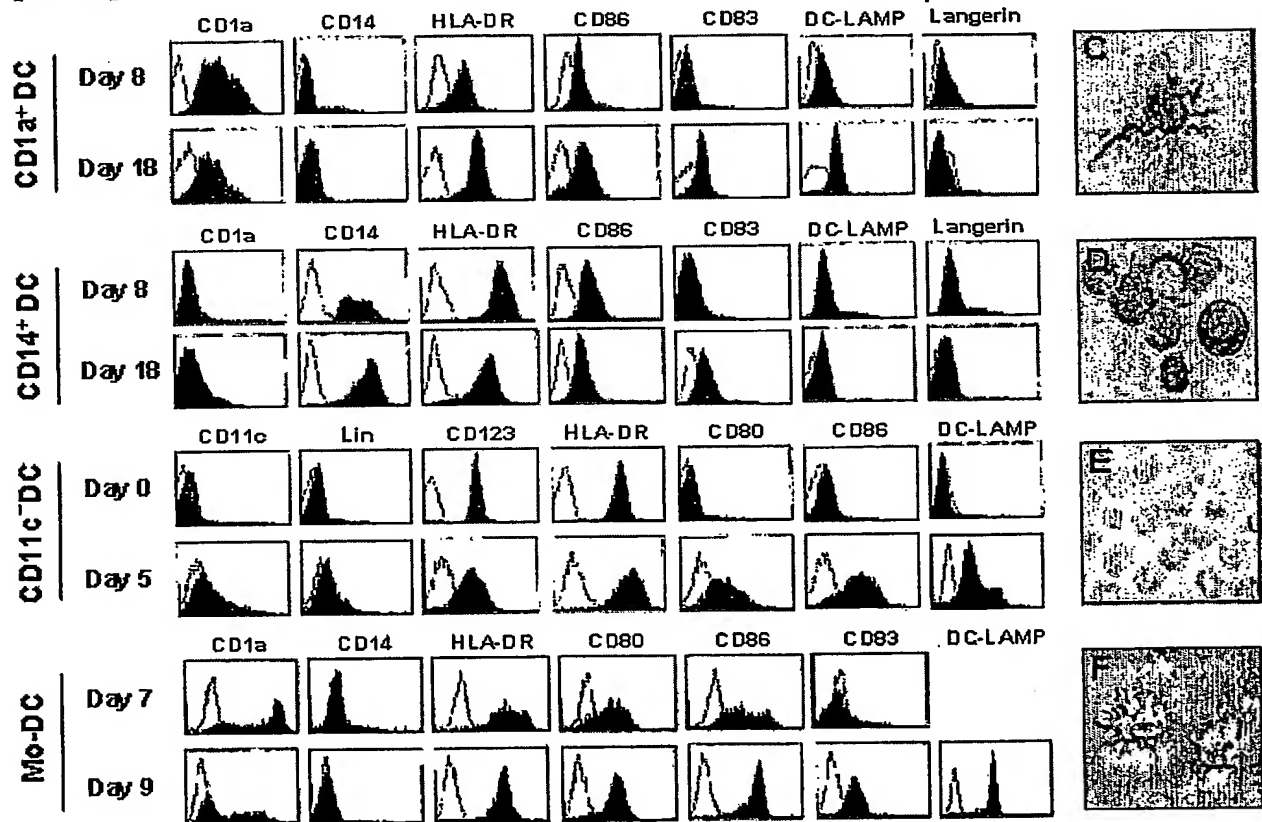
서열번호 2로 표시되는 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 단편, S100 칼슘-결합 단백질 베타 유전자 또는 그의 단편, CD20-유사 전구체 유전자 또는 그의 단편, Ig 슈퍼패밀리 단백질 유전자 또는 그의 단편, 당단백질 nmb 유전자 또는 그의 단편, 오스테오폰틴 유전자 또는 그의 단편, 5-리포옥시게나아제 활성화 단백질 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 C 타입 1 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 4 유전자 또는 그의 단편, RNase A 패밀리 1 유전자 또는 그의 단편, 리소좀 산 리파아제 유전자 또는 그의 단편, 시스타틴 A 유전자 또는 그의 단편, 단백질 키모탁틱 단백질 1 유전자 또는 그의 단편, 형질전환 인자 베타-유도성 68kD 유전자 또는 그의 단편, 페리틴 유전자 또는 그의 단편, 포낭-관련 막 단백질 8 유전자 또는 그의 단편, 만노오스 수용체 (CD206) 유전자 또는 그의 단편, 그리고 상기 서열들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드.

【도면】

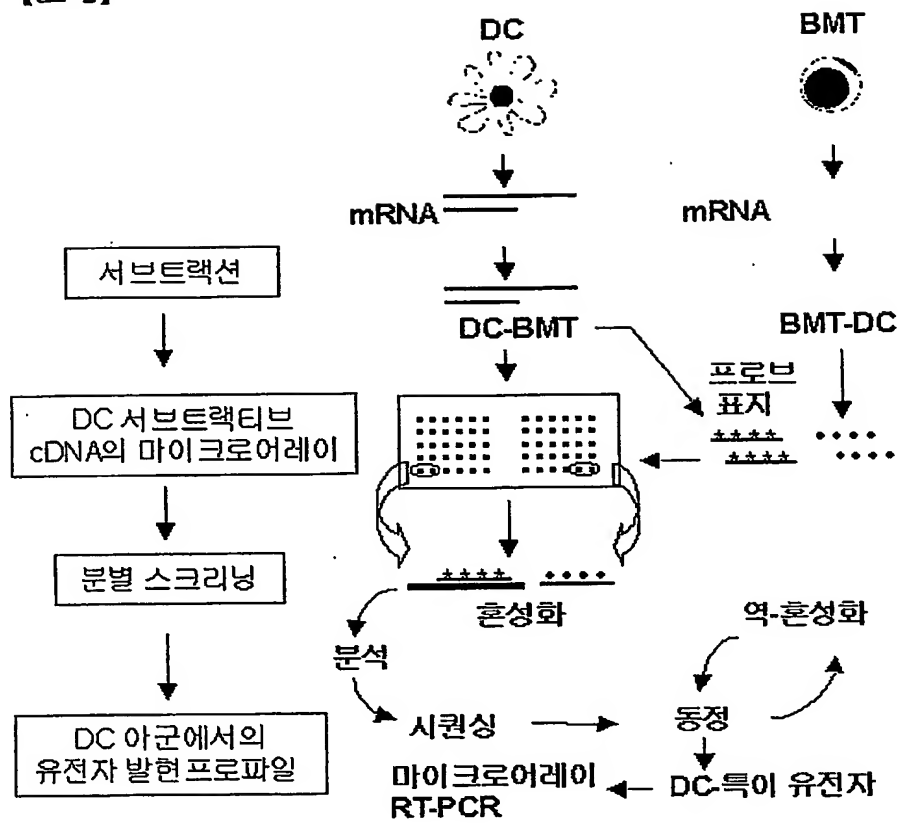
【도 1a】



【도 1b】



【도 2】



【도 3】

유전자	25 사이클										30 사이클											
	DC					DC					DC					DC						
	MODC	CD1a ⁺	CD11c ⁺	CD14 ⁺	B cell	monocytes	T cell	MODC	CD1a ⁺	CD11c ⁺	CD14 ⁺	B cell	monocytes	T cell	MODC	CD1a ⁺	CD11c ⁺	CD14 ⁺	B cell	monocytes		T cell
MMP-12	++	+++		+				+	+	+	+				+	+	+	+				27.2
Langerin*	++	+++		+/				+	+	+	+				+	+	+	+				ND
TARC	+++	+++			+			+	+	+	+				+	+	+	+				23.5
IgSF Z39Ig		++		+++		+			+	+	+					+	+	+				13.2
Mannose R	++	++		+++				+	+	+	+				+	+	+	+				10.9
Osteopontin	+++	+++		+++		+/		+	+	+	+				+	+	+	+				11.2
GPMB	++	++		+++		+/		+	+	+	+				+	+	+	+				11.9
MCP-4	+++	+++		+++				+	+	+	+				+	+	+	+				10.1
MDL-1		++	+/	+++	+/	+			+	+	+				+	+	+	+				5.8
CD20-like	+/	++	++	+++	+/	+/	+/	+	+	+	+				+	+	+	+				15.7
TGFB1	++	++	+++	+++		+/		+	+	+	+				+	+	+	+				6.1
Lipase A	+++	+++	++	+++	++	+	++	+	+	+	+				+	+	+	+				7.4
Cystatin A	++	+++	++	+++	++	++	+/	+	+	+	+				+	+	+	+				7.3
DORA	++	+++	++	+++	+	++	+	+	+	+	+				+	+	+	+				3.1
CCR1*	++	++		+++	+	+++	+/	+	+	+	+				+	+	+	+				ND
CCR7*	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+	+	+	+				+	+	+	+				ND
Thymosin β4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+				+	+	+	+				4.9
BAP31	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+				+	+	+	+				4.8
GABARAP	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+				+	+	+	+				3.8
GAPDH								+	+	+	+				+	+	+	+				ND
CD19								+	+	+	+				+	+	+	+				ND
CD14								+	+	+	+				+	+	+	+				ND
CD28								+	+	+	+				+	+	+	+				ND

【서열목록】

<110> CreaGene Inc. <120> Novel Dendritic Cell-Specific Polynucleotides and

Microarray	Comprising the Same <130>	Crea-3 <160>	6 <170>
KopatentIn 1.71 <210>	1 <211>	304 <212>	DNA <213> Homo sapiens <400>
1	gtacgcggga cagtctttca cagatggtgg agtgtttttc ccccaaactct gttgtttgtc		60
	ttataatggt gtatatgagg ttttatggtg tatgaatatg aatgcttctg taatgtcaaa		120
	cagatcccta gtaaactcct tcttcacttt tactgtcaga ttacaaaagg tcctcccatt		180
	gcaaagcagt gttgtccta atttatatat tgtttttcta gttcattttg tgtttccaac		240
	ttttcatgta aaattttaat tatttttgaa tgtgtggatg tgagactgag gtgccttttg		300 gtac
304 <210>	2 <211>	1658 <212>	DNA <213> Homo sapiens <400> 2
	agggggagct tggggactgc agctgtgggg agatttcagt gcattgcctc ccctgggtgc		60
	tcttcacttt ggatttgaaa gttgagagca gcatgttttg cccactgaaa ctcatcctgc		120
	tgccagtgtt actggattat tccttgggcc tgaatgactt gaatgtttcc ccgcccagagc		180
	taacagtcca tgtgggtgat tcagctctga tgggatgtgt ttccagagc acagaagaca		240
	aatgtatatt caagatagac tggactctgt caccaggaga gcacgccaag gacgaatatg		300
	tgctatacta ttactccaat ctcatgtgct ctattgggcg ctccagaaac cgcgtacact		360
	tgatggggga caacttatgc aatgatggct ctctcctgct ccaagatgtg caagaggctg		420
	accagggaaac ctatatctgt gaaatccgcc tcaaagggga gagccaggtg ttcaagaagg		480
	cggtgggtact gcatgtgctt ccagaggagc ccaaagagct catgggtccat gtgggtggat		540
	tgattcagat gggatgtgtt ttccagagca cagaagtga acacgtgacc aaggtagaat		600
	ggatattttc aggacggcgc gcaaaggagg agattgtatt tcgttactac cacaaactca		660
	ggatgtctgc ggagtactcc cagagctggg gccacttcca gaatcgtgtg aacctggtgg		720
	gggacatttt ccgcaatgac gggtccatca tgcttcaagg agtgaggagag tcagatggag		780

gaaactacac ctgcagtatc cacctaggga acctggtgtt caagaaaacc attgtgctgc 840
 atgtcagccc ggaagagcct cgaacactgg tgaccccggc agccctgagg cctctggtct 900
 tgggtggtaa tcagttggtg atcattgtgg gaattgtcgg tgccacaatc ctgctgctcc 960
 ctgttctgat attgatcgtg aagaagacct gtggaaataa gagttcagtg aattctacag 1020
 tcttggtgaa gaacacgaag aagactaatc cagagataaa agaaaaaccc tgccattttg 1080
 aaagatgtga aggggagaaa cacatttact cccaataat tgtacgggag gtgatcgagg 1140
 aagaagaacc aagtgaaaaa tcagaggcca cctacatgac catgcacccg gtttggcctt 1200
 ctctgaggtc agatcggaac aactcacttg aaaaaaagtc aggtggggga atgccaaaaa 1260
 cacagcaagc cttttgagaa gaatggagag tcccttcac tcagcagcgg tggagactct 1320
 ctctgtgtg tgcctgggc cactctacca gtgatttcag actcccgtc tcccagctgt 1380
 cctcctgtct cattgtttgg tcaatacact gaagatggag aatttggagc ctggcagaga 1440
 gactggacag ctctggagga acaggcctgc tgaggggagg ggagcatgga ctggcctct 1500
 ggagtgggac actggccctg ggaaccaggc tgagctgagt ggcctcaaac cccccgttg 1560
 atcagaccct cctgtgggca gggttcttag tggatgagtt actgggaaga atcagagata 1620
 aaaccacccc caaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1658 <210>

3 <211> 236 <212> DNA <213> Homo sapiens <400> 3 gtacctgatt atgtctctgg
 gtctttctgg aacttttctc atctgtaaaa aggggccctt 60 ggattcagca ggggtaatga
 gttttattct ccattgtcaa cttcagtcaa tagaggtggc 120 tgtctgatgc tgtgttgaga
 agggtcagac accttgtcca ggttcaaaga gaaagagtgc 180 taggactgat tagtagtacc
 caaaagccgg tctcctgcag cctgaagctc ttgtac 236 <210> 4 <211> 434 <212>

DNA <213> Homo sapiens <400> 4 gtacacctgt aattccagct actcaggagg tggaggtggg

```

aggatcacct gaacctgggg      60 aggtcgaggc tgcagtgagc cgtgatcaca ctactgcact
ccagcctggg tagcagagtg      120 agaccctgcc tcaaaagaaa aagcctctgg ccaccaaacg
gagaatagaa cagcttggga      180 gcctactgca atagtccagg cagagaaaac agtgattaga
gtgaatttaa gtcaaggtcc      240 tgtgtttact gactccgcct ttatTTTTct cctgccccca
ttcttccttc tgctgctttc      300 cctaggaggc cctgccatca cagactctaa taatatctat
aattttaaga aactagccat      360 aggaaggcat ctactagtt atacatcaaa atcacccaag
ttgagggccg cagggatttg      420 tctgggaggg gtac

```

```

434 <210>    5 <211>    424 <212>    DNA <213>    Homo sapiens <400>    5
gtacgcgggg gtttttccaa agccttccaa cagcaacatg aagttggcag ccttcctcct      60
cctgtgatcc tcatcatctt cagcctagag gtacaagagc ttcaggctgc aggagaccgg      120
cttttgggta cctgcgtcga gctctgcaca ggtgactggg actgcaaccc cggagaccac      180
tgtgtcagca atgggtgtgg ccatgagtgt gttgcagggt aaggacagat gaagagtat      240
cittaaggatc atctttccct aagatcgtca tcccttcctg gagttcctat ctccaagat      300
gtgactgtct ggagttcctt gactaggaag atggatgaaa acagcaagcc tgtggatgga      360
gactacaggg gatatgggag gcaggaaga ggggttgttt cttttaataa atcatcattg      420 ttaa
424 <210>    6 <211>    363 <212>    DNA <213>    Homo sapiens <400>    6
gtacaagttt aatgtttagt tctagaaatt ttgtgcaata tgttcataac gatggctgtg      60
gttgccacaa agtgcctcgt ttacctttaa atactgttaa tgtgtcatgc atgcagatgg      120
aagggtgga actgtgcact aaagtggggg cttaactgt agtatttggc agagttgcct      180
tctacctgcc agttcaaaag ttcaacctgt ttcatatag aatatatata ctaaaaaatt      240
tcagtctgtt aaacagcctt actctgattc agcctcttca gatactcttg tgctgtgcag.      300

```

1020020017470

출력 일자: 2003/4/26

cagtggctct gtgtgtaa at gctatgcact gaggatacac aaaaatacca atatgatgtg

360 tac

363